



Les oxygénases artificielles : nouveaux outils pour la catalyse asymétrique d'oxydation d'alcènes et de thioéthers dans le cadre de la “chimie verte”

Frédéric Oddon

► To cite this version:

Frédéric Oddon. Les oxygénases artificielles : nouveaux outils pour la catalyse asymétrique d'oxydation d'alcènes et de thioéthers dans le cadre de la “chimie verte”. Chimie. Université Joseph-Fourier - Grenoble I, 2010. Français. NNT : . tel-00558081

HAL Id: tel-00558081

<https://theses.hal.science/tel-00558081>

Submitted on 20 Jan 2011

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

THÈSE

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE GRENOBLE

Spécialité **Chimie Biologie**

Arrêté ministériel : 7 août 2006

Présentée et soutenue publiquement par

ODDON FREDERIC

le **15 décembre 2010**

**LES OXYGENASES ARTIFICIELLES : NOUVEAUX OUTILS POUR LA CATALYSE
ASYMETRIQUE D'OXYDATION D'ALCENES ET DE THIOETHERS DANS LE CADRE
DE LA "CHIMIE VERTE"**

Thèse dirigée par **MENAGE Stéphane** et codirigée par **MARCHI-DELAPIERRE Caroline**

Thèse préparée au sein du **Laboratoire de Chimie et Biologie des Métaux** dans l'Ecole Doctorale
Chimie et Sciences du Vivant

JURY

| | | |
|---|--|-------------------|
| Mr THOMAS Fabrice | Pr Université de Grenoble | Président |
| Mr REGLIER Marius | DR CNRS Marseille | Rapporteur |
| Mr ANDRIOLETTI Bruno | Pr Université Claude Bernard Lyon | Rapporteur |
| Mme MEKMOUCHE Yasmina | CR CNRS Marseille | Examineur |
| Mr MENAGE Stéphane | DR CNRS Grenoble | Examineur |
| Mme MARCHI-DELAPIERRE Caroline | MDC Université de Grenoble | Examineur |

Remerciements

Je souhaite tout d'abord remercier Caroline Marchi-Delapierre, ma co-directrice de thèse, de m'avoir aidé en synthèse organique. Nous avons rencontré beaucoup de difficultés – surtout au début pour la synthèse de flavines –, mais grâce à son dévouement, je suis parvenu à mettre au point des ligands originaux. Je n'oublierai jamais sa patience et ses compétences didactiques qui m'ont éclairé sur bien des points, et pas seulement en chimie organique.

Je remercie particulièrement Stéphane Ménage, mon directeur de thèse, pour sa grande disponibilité, son humour, sa gentillesse et pour m'avoir fait découvrir et aimer la chimie inorganique avec tout ce qu'elle recèle d'aspects particuliers et surprenants. De plus, il m'a fait connaître des scientifiques prodigieux m'ayant beaucoup inspirés tels que Lawrence Que Jr, Wonwoo Nam, Miquel Costas et bien d'autres.

Je remercie également les membres du jury, à savoir Marius Réglier, Bruno Andrioletti, Yasmina Mekmouche et Fabrice Thomas d'avoir accepté d'évaluer mes travaux de thèse à travers la lecture du manuscrit, l'écoute de la soutenance ainsi que la discussion qui s'en est suivie.

Par ailleurs, je tiens à remercier Elodie Girgenti, post-doctorante qui a travaillé sur le même sujet de recherche que moi. Je la remercie pour son aide, son soutien et la patience dont elle a fait preuve vis-à-vis de mes plaintes.

Je n'oublie pas Adeline Jorge-Robin qui, en sa qualité d'assistante ingénieur, m'a permis de mener à bien mes études de catalyse. Je retiendrai d'elle sa joie de vivre et son franc-parler.

J'ai aussi une pensée particulière pour mon cher ami Stéphane Torelli (alias Totor). En effet, il m'a lui aussi beaucoup aidé et, par la même occasion, appris beaucoup de choses. Je ne risque pas d'oublier nos conversations joyeuses et grivoises.

Je n'oublie pas les autres membres des “mangeurs de la cafétéria du laboratoire” que sont Olive, Phong et Pierre-André. Ce fut vraiment de bons moments de convivialité et de détente salutaires pour bien se mettre en route pour l'après-midi.

Je n'oublie pas non plus mes colocataires de bureau, à savoir Phong et Jennifer, ainsi que mes voisins de bureau, à savoir Marine et Vincent. Je tiens, par la même occasion, à remercier ce dernier pour ses explications claires en mathématiques.

Je garde aussi un très bon souvenir de certains autres permanents du laboratoire, à savoir Murielle, Ahmid, Fabien et Sandrine. Je n'oublie pas non plus Nathalie, notre secrétaire, très compétente, serviable et généreuse.

De même, je remercie tous les autres doctorants et post-doctorants du laboratoire, qui sont, pour la plupart, partis avant que je ne finisse ma thèse : Pascal, Florence, Simon Arragain et Simon Duval, Silke, Emilie, Aziz, Sigolène et Adeline Lérís.

Je voudrais aussi remercier Colette Lebrun pour la spectrométrie de masse, ce qui m'a permis de caractériser de nombreux ligands et complexes. Je remercie aussi Jacques Pécaut pour l'obtention de la structure cristallographique de l'un de mes complexes de fer(II) révélant des caractéristiques singulières, ce qui a apporté une lumière nouvelle sur mes travaux.

Ces remerciements ne seraient pas complets si je n'ajoutais Chantal, une femme très gentille, serviable, attentionnée et dévouée, à qui je souhaite une très bonne retraite accompagnée d'une bonne santé.

Du reste, il me faut ajouter à cette liste Michel-Franck et Martin (dits Mif et Maf), qui ont effectué leurs stages de M1 et M2 au laboratoire ; deux joyeux lurons avec qui j'ai bien ri, j'avais parfois bien besoin de ces moments de détente.

Pour finir, je remercie Christine Cavazza, du Laboratoire de Cristallographie et de Cristallogenèse des protéines, pour son implication dans le projet afin que j'obtienne des structures cristallographiques de certains hybrides. A ce titre, je remercie aussi Michaël Cherrier et Marina Iannello.

A mes parents qui m'ont toujours soutenu et encouragé.

Sommaire

| | |
|--|-----------|
| Abréviation..... | 4 |
| Introduction générale..... | 6 |
| Chapitre I. Introduction bibliographique..... | 10 |
| A. Les oxygénases à fer..... | 10 |
| I- Les enzymes à fer héminique..... | 11 |
| II- Les enzymes à fer non héminique..... | 14 |
| II-1. Les enzymes mononucléaires de fer non héminique..... | 15 |
| II-1.1. Les dioxygénases de Rieske..... | 16 |
| II-1.2. Les dioxygénases α -cétoglutarate-dépendantes..... | 23 |
| II-2. Les enzymes dinucléaires de fer non héminique..... | 26 |
| III- Conclusion..... | 32 |
| B. Catalyse homogène et chimie bio-inspirée..... | 33 |
| I- L'oxydation énantiosélective d'alcènes..... | 33 |
| I-1. Avec des complexes mononucléaires de fer non héminique..... | 33 |
| I-2. Avec des complexes dinucléaires de fer non héminique..... | 38 |
| II- L'hydroxylation stéréosélective d'alcanes..... | 41 |
| II-1. Avec des complexes mononucléaires de fer non héminique..... | 41 |
| II-2. Avec des complexes dinucléaires de fer non héminique..... | 48 |
| III- La sulfoxydation énantiosélective de thioéthers..... | 49 |
| III-1. Avec des complexes mononucléaires de fer non héminique..... | 49 |
| III-2. Avec des complexes dinucléaires de fer non héminique..... | 53 |
| IV- Conclusion..... | 54 |
| C. Les métalloenzymes artificielles..... | 56 |
| I- Concept général..... | 56 |
| II- Elaboration d'oxygénases artificielles..... | 59 |
| II-1. Stratégie par insertion covalente..... | 59 |
| II-1.1. Avec une seule liaison covalente..... | 59 |
| II-1.2. Avec deux liaisons covalentes..... | 60 |
| II-2. Stratégie par insertion dativ..... | 62 |
| II-3. Stratégie par insertion supramoléculaire..... | 64 |
| II-3.1. Introduction d'ions métalliques..... | 64 |
| II-3.2. Stratégie du "Cheval de Troie"..... | 66 |
| III- Conclusion..... | 69 |
| Chapitre II. Description du projet..... | 77 |
| Chapitre III. Synthèse, caractérisation et activité des complexes..... | 86 |
| A. Les complexes destinés à être insérés dans NikA..... | 86 |
| I- Préparation et caractérisation des complexes..... | 86 |
| I-1. Synthèse des ligands..... | 87 |
| I-2. Synthèse et caractérisation des complexes de fer(II)..... | 91 |
| I-2.1. Les complexes de fer(II) avec les ligands à deux groupements carboxyle L2diC ₂ O ₂ H et L4diC ₂ O ₂ H..... | 91 |
| I-2.1.1. Avec du perchlorate de fer(II) comme source de fer..... | 91 |
| I-2.1.2. Avec du chlorure de fer(II) comme source de fer..... | 101 |
| I-2.2. Les complexes de fer(II) avec les ligands à un seul groupement carboxyle L2MeC ₂ O ₂ H et L4MeC ₂ O ₂ H..... | 111 |
| I-3. Synthèse et caractérisation des complexes de fer(III)..... | 120 |

| | |
|--|------------|
| I-3.1. Les complexes de fer(III) avec les ligands à deux groupements carboxyle $L4diC_2O_2H$ et $L2diC_2O_2H$ | 120 |
| I-3.2. Le complexe de fer(III) avec le ligand à un seul groupement carboxyle $L2MeC_2O_2H$ | 129 |
| II- Activité des complexes en catalyse d'oxydation..... | 134 |
| II-1. Catalyse d'époxydation..... | 134 |
| II-1.1. Condition avec pousse-seringue..... | 137 |
| II-1.1.1. Avec le cyclooctène comme substrat..... | 137 |
| II-1.1.2. Avec le trans-2-heptène comme substrat..... | 139 |
| II-1.1.3. Avec le cis- β -méthylstyrène comme substrat..... | 140 |
| II-1.2. Condition sans pousse-seringue..... | 141 |
| II-2. Catalyse de sulfoxydation..... | 144 |
| II-2.1. En milieu organique..... | 144 |
| II-2.2. En milieux aqueux..... | 146 |
| B. Les complexes destinés à être insérés dans HSA..... | 148 |
| I- Préparation et caractérisation des complexes..... | 149 |
| I-1. Synthèse des ligands..... | 149 |
| I-1.1. Le ligand $L4MeC_3-Ibu$ | 149 |
| I-1.2. Le ligand $L4MeC_3NH-TIB$ | 150 |
| I-2. Synthèse des complexes de fer(II)..... | 153 |
| I-2.1. Le complexe $[Fe^{II}(L4MeC_3-Ibu)](ClO_4)_2$ | 154 |
| I-2.2. Le complexe $[Fe^{II}(L4MeC_3-Ibu)]Cl_2$ | 154 |
| I-2.3. Le complexe $[Fe^{II}(L4MeC_3NH-TIB)]Cl_2$ | 155 |
| I-3. Caractérisation des complexes..... | 156 |
| II- Activité des complexes en catalyse d'oxydation..... | 162 |
| II-1. Catalyse d'époxydation..... | 162 |
| II-1.1. Condition avec pousse-seringue avec une quantité variable en acide acétique..... | 163 |
| II-1.2. Condition sans pousse-seringue avec une quantité variable en acide acétique..... | 165 |
| II-1.3. Etudes préliminaires sur la nature de l'espèce transitoire apparaissant lors de la catalyse d'oxydation d'alcènes aromatiques..... | 166 |
| II-2. Catalyse de sulfoxydation..... | 172 |
| II-2.1. En milieu organique..... | 172 |
| II-2.2. En milieu aqueux..... | 174 |
| Chapitre IV. Elaboration, caractérisation et propriétés catalytiques des hybrides..... | 178 |
| A. Les hybrides préparés avec NikA..... | 178 |
| I- Préparation et caractérisation..... | 178 |
| I-1. Préparation et purification des hybrides..... | 179 |
| I-2. Caractérisation des hybrides..... | 179 |
| I-2.1. Dosage en fer et en protéine..... | 179 |
| I-2.2. Etude par spectroscopie d'absorption UV-visible..... | 180 |
| I-2.3. Détermination des constantes d'affinité des complexes par spectroscopie de fluorescence..... | 183 |
| I-2.4. Etude structurale par diffraction des rayons X..... | 186 |
| I-2.4.1. Les hybrides avec les complexes possédant le motif éthylènediamine..... | 186 |
| I-2.4.2. Les hybrides avec les complexes possédant le motif cyclohexanediamine..... | 189 |

| | |
|--|------------|
| II- Propriétés catalytiques des hybrides..... | 195 |
| II-1. Catalyse de sulfoxydation..... | 196 |
| II-2. Catalyse d'époxydation : résultats préliminaires..... | 207 |
| III- Conclusion..... | 209 |
| Chapitre V. Conclusion générale et discussion..... | 213 |
| Partie expérimentale..... | 217 |
| A. Synthèse des ligands et des complexes..... | 218 |
| I- Synthèse des ligands..... | 218 |
| I-1. Les ligands possédant un ou deux groupements carboxyle pour la reconnaissance avec NikA..... | 218 |
| I-2. Les ligands possédant un motif de reconnaissance pour HSA..... | 232 |
| II- Synthèse des complexes..... | 238 |
| II-1. Les complexes destinés à être insérés dans NikA..... | 238 |
| II-2. Les complexes destinés à être insérés dans HSA..... | 249 |
| B. Tests catalytiques d'oxydation d'alcènes et de thioéthers..... | 252 |
| I- En milieu organique..... | 252 |
| II- En milieu aqueux..... | 253 |
| C. Surexpression, extraction et purification de la protéine NikA..... | 254 |
| I- Surexpression de la protéine NikA..... | 254 |
| II- Extraction et purification de la protéine NikA..... | 255 |
| D. Elaboration, purification et caractérisation des hybrides..... | 256 |
| I- Elaboration et purification des hybrides..... | 256 |
| II- Caractérisation des hybrides..... | 256 |
| II-1. Dosage du fer..... | 256 |
| II-2. Dosage protéique..... | 257 |
| Annexe 1. Données cristallographiques pour le complexe [Fe^{II}(L2diC₂O₂H)](ClO₄)₂..... | 259 |
| Annexe 2. Données cristallographiques pour les hybrides..... | 260 |

Abréviations

Å : Angström
AcO : Acétate
AcOH : Acide acétique
AcOEt : Acétate d'éthyle
ACP : Acyl Carrier Protein
 α -CG : α -Cétoglutarate
anh : Anhydre
apo-Mb : Apomyoglobine
Ar : Argon
Arg : Arginine
Asp : Aspartate
Asn : Asparagine
bisPB : bis(4,5-pinène-2,2'-bipyridine)
BPBP : *N,N'*-bis(2-pyridylméthyl)-2,2'-bipyrrolidine
BPMCN : *N,N'*-bis(2-pyridylméthyl)-*N,N'*-diméthyl-*trans*-1,2-diaminocyclohexane
BPMEN : *N,N'*-bis(2-pyridylméthyl)-*N,N'*-diméthyl-1,2-diaminoéthane
BSA : Bovine Serum Albumin
Cat : Catalyseur
CCM : Chromatographie sur couche mince
CH₂Cl₂ : Dichlorométhane
CD₂Cl₂ : Dichlorométhane deutéré
ClO₄ : Perchlorate
CYP450 : Cytochrome P450
CYP450_{cam} : Cytochrome P450 catalysant l'hydroxylation du camphre
Cys : Cystéine
DMAP : *N,N*-Diméthylaminopyridine
DMF : *N,N*-Diméthylformamide
d_{moy} : Distance moyenne
EDTA : Ethylene Diamine Tetraacetic Acid
ee : Excès énantiomérique
éq. : équivalent
ESI-MS : ElectroSpray Ionization Mass Spectrometry
EtOH : Ethanol
Et₂O : Ether diéthylique
EXAFS : Extended X-ray Absorption Fine Structure
FAD : Flavine Adénine Dinucléotide
HEPES : Acide 4-(2-hydroxyéthyl)-1-pipérazine éthane sulfonique
HSA : Human Serum Albumin
IPTG : Isopropyl- β -D-1-thiogalactopyranose
IR : Infrarouge
m-CPBA : *meta*-Chloroperbenzoic Acid
LB : Luria-Bertani
MeCN : Acétonitrile
MeCO₃H : Acide peracétique
MeOH : Méthanol
MMOB : Composante régulatrice de la méthane monooxygénase
MMOH : Composante hydroxylase de la méthane monooxygénase

MMOR : Composante réductase de la méthane monooxygénase
 MMOs : Méthane monooxygénase soluble
 MMOp : Méthane monooxygénase membranaire
 NAD(P)H : Nicotinamide Adénine Dinucléotide (Phosphate)
 NaOCl : Hypochlorite de sodium
 NDO : Composante dioxygénase de la naphtalène 1,2-dioxygénase
 NDF : Composante de type ferrédoxine de la naphtalène 1,2-dioxygénase
 NDR : Composante réductase de la naphtalène 1,2-dioxygénase
 NEt₃ : Triéthylamine
 NYM : New Glycerol Minimal Medium
 N4Py : *N,N*-bis(2-pyridylméthyl)-*N*-bis(2-pyridyl)méthylamine
 OTf : Trifluorométhanesulfonate
 Phen : Phénantroline
 pI : Point isoélectrique
 Qté : Quantité
 Rdt : Rendement
 RMN : Résonance magnétique nucléaire
 RMN_{para} : Résonance magnétique nucléaire paramagnétique
 RPE : Résonance paramagnétique électronique
 T° : Température
 T°amb : Température ambiante
 TauD : Taurine/ α -CG dioxygénase
 THF : Tétrahydrofuranne
 Thr : Thréonine
 TFA : Trifluoroacetic Acid
 TPA : Tris(2-pyridylméthyl)amine
 TPP : *meso*-tétra-*para*-tolylporphyrine
 Tris : Tris-hydroxyméthylaminométhane
 Trp : Tryptophane
 UV : Ultraviolet

Introduction générale

Les impératifs économiques et écologiques actuels incitent les chimistes à revoir leurs procédés de synthèse. Pour ce faire, il leur faut recourir aux méthodes catalytiques de préférence à celles stœchiométriques, mais aussi à limiter le nombre d'étapes de synthèse et de purification, à utiliser le moins possible de groupements protecteurs, à rechercher des alternatives aux solvants organiques nocifs et polluants en ayant recours, entre autres, aux liquides ioniques, aux fluides supercritiques ou à l'eau. Ces différents critères définissent la "chimie verte", un concept élaboré en 1998 par les chimistes américains Anastas et Warner.¹ Cette chimie peut aussi s'appréhender comme une méthode visant à minimiser le hasard lors des synthèses, d'avoir un contrôle sur la réactivité afin d'éviter la production de composés indésirables et ainsi limiter la quantité de déchets. Bref, une chimie qui s'inscrit dans le cadre du développement durable pour la préservation de notre planète.

La synthèse de composés énantiopurs est de prime importance dans les domaines pharmaceutique et agroalimentaire, en témoignent certains anti-VIH comme le triphosphate de (-)-carbovir qui a une activité antivirale significative, alors que son énantiomère a une insignifiante. Autre exemple probant, celui du limonène où l'énantiomère *R* confère une odeur de citron et le *S* une odeur d'orange. En outre, l'oxydation énantiosélective d'alcanes, d'alcènes et de thioéthers est une composante importante dans l'industrie pharmaceutique. D'autre part, la FDA (Food and Drug Administration) a imposé en 1992 l'étude biologique de chaque énantiomère d'une substance active avant sa mise sur le marché. Cette directive a incité un grand nombre de laboratoires pharmaceutiques à commercialiser leurs médicaments sous la forme d'un seul énantiomère. Ainsi, en 2000, le nombre de médicaments vendus au États-Unis sous la forme d'un seul énantiomère était estimé à 40%, et actuellement 80% des médicaments en phase de développement sont constitués de molécules optiquement actives.²

Des systèmes catalytiques à base de complexes métalliques ont fait leurs preuves en permettant d'obtenir des molécules optiquement actives avec de très bons rendements et sélectivités ; la performance de ces systèmes a d'ailleurs été reconnue par le Prix Nobel de chimie en 2001.³ C'est pour cette raison que les domaines industriels font appel principalement à ces procédés. Il n'en reste pas moins que ceux-ci requièrent des métaux chers et toxiques incluant, entre autres, l'osmium, le palladium, le rhénium ou encore l'iridium. Il s'avère ainsi nécessaire d'utiliser d'autres métaux moins nobles, donc moins

onéreux, et moins nocifs (fer, manganèse, cuivre), ainsi que des oxydants non toxiques comme l'oxygène moléculaire ou le peroxyde d'hydrogène – dont le seul sous-produit est l'eau – pour se diriger vers une chimie plus respectueuse de l'environnement. Dans ce contexte particulier, les enzymes se sont avérées être une source d'inspiration considérable pour la mise en œuvre de nouveaux catalyseurs.

Les enzymes sont des catalyseurs biologiques indispensables au déroulement du réseau métabolique des cellules procaryotes et eucaryotes. Par ailleurs, elles sont beaucoup plus efficaces que les catalyseurs minéraux synthétiques ; en effet, elles peuvent augmenter la vitesse d'une réaction de 10^6 par rapport à la réaction non catalysée. Leurs propriétés découlent de leur aptitude à diminuer l'énergie d'activation d'une réaction en stabilisant l'état de transition par la structure du site actif. La plupart des enzymes possèdent une composante non protéique appelée cofacteur sans laquelle elles ne pourraient jouer leur rôle de catalyseur. La plupart des cofacteurs sont inorganiques, ils sont constitués d'ions métalliques du fer, du cuivre, du nickel, du zinc, du cobalt ou encore du molybdène. Outre leur grande efficacité catalytique les enzymes sont hautement énantiosélectives dans le sens où lorsque qu'elles catalysent la transformation d'un composé prochiral, un seul énantiomère est produit.

Nous voyons ainsi l'intérêt des enzymes dans les contextes de la "chimie verte" et de la catalyse asymétrique. En effet, celles-ci peuvent être utilisées telles quelles, ouvrant les portes de la biocatalyse. D'autre part, des chimistes ont saisi l'opportunité de développer une nouvelle chimie en élaborant des catalyseurs dont la structure mime celle des sites actifs des métalloenzymes, il s'agit de la chimie biomimétique. Une autre approche consiste à reproduire les propriétés des métalloenzymes en s'inspirant de celles-ci pour l'élaboration de catalyseurs inorganiques ayant une structure voisine mais différente de celle des sites actifs enzymatiques. Dans cette approche bio-inspirée, le degré de complexité peut être augmenté en concevant des objets originaux résultant de l'incorporation de catalyseurs achiraux dans une protéine dénuée d'activité. Ces métalloenzymes artificielles permettraient aux catalyseurs inorganiques de bénéficier d'un environnement chiral apporté par les acides aminés de la protéine, mais aussi de fonctionner en milieu aqueux du fait de l'hydrosolubilité de celle-ci.

La majorité des investigations en catalyse asymétrique s'est focalisée sur les réactions d'hydrogénation, tandis que l'intérêt pour les réactions d'oxydation ne date que depuis peu. Ce revirement trouve son origine dans la découverte d'alcaloïdes présentant des activités anti-tumorales tels que le Taxol ou le Taxotère dont la structure possède des alcools secondaires

chiraux.⁴ Il en est de même pour de nombreuses molécules possédant des activités pharmacologiques, et qui requièrent une ou plusieurs étapes d'oxydation au cours de leur synthèse. A ce titre, nous pouvons citer l'oméprazole – utilisé dans le traitement de l'ulcère gastro-duodéal – dont la synthèse fait intervenir une étape de sulfoxydation énantiosélective.

L'équipe Chimie Redox Bio-inspirée (CRBio) du Laboratoire de Chimie et Biologie des Métaux (LCBM) se caractérise par ses recherches en catalyse asymétrique d'oxydation à partir de complexes de fer non hémique dans une approche bio-inspirée. Depuis quatre ans, un nouvel axe de recherche s'est développé qui a pour ambition la conception et la caractérisation d'oxygénases artificielles, objets hybrides bio-inorganiques résultant de l'incorporation de complexes métalliques au sein de la poche hydrophobe d'une protéine. Mes travaux de doctorat se sont portés sur l'élaboration de tels catalyseurs selon une stratégie d'insertion des complexes par reconnaissance supramoléculaire ne dépendant que de liaisons faibles entre la protéine et le catalyseur inorganique. L'objectif de ces travaux est d'effectuer la catalyse énantiosélective d'hydroxylation d'alcanes, d'époxydation d'alcènes et de sulfoxydation de thioéthers.

Ce rapport commencera avec une présentation de quelques enzymes à fer ayant la propriété d'activer l'oxygène moléculaire. Par la suite, il sera question de la conception de catalyseurs inorganiques bio-inspirés, et dans le chapitre suivant de différents travaux réalisés sur les métalloenzymes artificielles. Ceci fait, mes travaux de doctorat seront présentés avec leurs objectifs et leurs différentes particularités par rapport aux travaux les plus significatifs effectués dans ce domaine. Il s'ensuivra une partie consacrée aux résultats obtenus, avant d'évoquer les perspectives qui en découlent.

Références :

- (1) Pour le concept de “chimie verte”, voir :
(a) Anastas, P. T.; Warner, J. C. *Green Chemistry: Theory and Practice*; Oxford University Press: Oxford, **1998**. (b) Collins, T. J. *Acc. Chem. Res.* **2002**, *35*, 782-790. (c) Poliakoff, M.; Fitzpatrick, J. M.; Farren, T. R.; Anastas, P. T. *Science* **2002**, *297*, 807-810. (d) Sheldon, R. A., Arends, I. & Hanefeld, U. *Green Chemistry and Catalysis* (Wiley-VCH, **2007**).
- (2) Stinson, S. C. *Chem. Engineering News* **2001**, *79*, 79-97.
- (3) (a) Knowles, W. S. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 1998-2007. (b) Noyori, R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 2008-2022. (c) Sharpless, K. B. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 2024-2032.
- (4) (a) Guénard, D.; Guéritte-Voegelein, F.; Potier, P. *Acc. Chem. Res.* **1993**, *26*, 160-167. (b) Li, G.; Chang, H.-T.; Sharpless, K. B. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1996**, *35*, 451-454.

Chapitre I. Introduction bibliographique

Les organismes vivants tirent partie de l'oxygène moléculaire afin de réaliser l'oxygénation de composés chimiquement inertes comme les alcanes, les alcènes et les composés aromatiques. Or, les réactions avec l'oxygène moléculaire sont cinétiquement défavorables ; ainsi, faut-il des systèmes capables de l'activer, et les enzymes à fer représentent de tels systèmes. Qui plus est, ces catalyseurs ont la remarquable propriété d'insérer un ou deux atome(s) d'oxygène, à température et pression ambiantes, de façon régio- et stéréospécifique. Par conséquent, de nombreux chercheurs se sont fortement investis (et s'investissent encore) dans la compréhension du mécanisme par lequel ces métalloenzymes activent le dioxygène et incorporent un atome d'oxygène au sein de liaisons C-H de composés hydrocarbonés inertes.

Nous ne nous intéresseront qu'aux enzymes à fer les plus efficaces et les plus étudiées, ainsi qu'à celles qui peuvent être utilisées en biocatalyse et en bioremédiation dans l'optique de la "chimie verte". Puis, nous aborderons la catalyse asymétrique d'oxydation effectuée par des complexes de fer dont la structure est inspirée de celle des sites actifs des oxygénases à fer. Nous finirons ce chapitre avec les oxygénases artificielles, des nouveaux catalyseurs permettant de réunir les avantages des métalloenzymes et des catalyseurs homogènes bio-inspirés.

A. Les oxygénases à fer

Un grand nombre de métalloenzymes sont des enzymes à fer ayant, pour la plupart d'entre elles, la capacité d'activer le dioxygène afin de fonctionnaliser les liaisons C-H ou C=C inactives des hydrocarbures saturés, insaturés et aromatiques. Ce remarquable processus s'opère par le transfert d'un ou deux atome(s) d'oxygène au sein de ces liaisons selon une très haute chimio-, régio- et énantiosélectivité.

Les oxygénases à fer peuvent être regroupées en deux catégories : les enzymes à fer hémunique et à fer non hémunique.

I- Les enzymes à fer héminique

✓ Les cytochromes P450

Les cytochromes P450 (CYP450s) sont les plus représentatifs des enzymes à fer héminique. Ils sont présents dans de multiples organismes (bactéries, plantes, mammifères), notamment chez l'homme, où ils sont principalement localisés dans le foie et les reins. Ils ont de multiples rôles comme la dégradation de composés xénobiotiques (médicaments, polluants et toxines) et la synthèse de stéroïdes. Leur site actif contient un centre mononucléaire de fer(III) coordiné à quatre atomes d'azote d'une protoporphyrine IX, et attaché à la chaîne polypeptidique par un ligand cystéinate axial (Figure I-1).¹

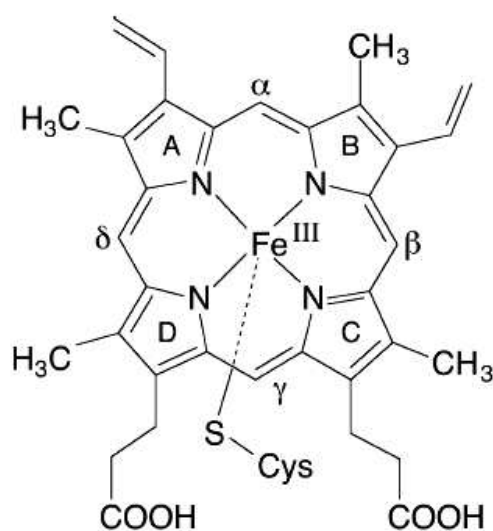


Figure I-1. Structure de la protoporphyrine IX de Fe^{III} des cytochromes P450s avec le ligand cystéinate coordonnant l'ion Fe^{III} . Les lettres A, B, C et D représentent les quatre noyaux pyrroliques et les symboles α , β , γ et δ les positions *méso*.¹

Depuis leur identification en 1963 par Sato et Omura,² les CYP450s n'ont cessé de fasciner les scientifiques, et ce, de part leur aptitude à catalyser diverses réactions d'oxydation, à température physiologique, de substrats inertes incluant, entre autres, l'hydroxylation d'alcane et de composés aromatiques, l'époxydation d'alcènes, les *N*- et *O*-désalkylations et la sulfoxydation de thioéthers.^{1,3} L'atome d'oxygène inséré lors des réactions de monooxygénation provient d'une molécule de dioxygène, l'autre atome étant réduit en molécule d'eau comme le montre l'équation ci-dessous :



Les électrons nécessaires à ces réactions proviennent du NADPH et sont apportés au site actif de l'enzyme par une réductase.^{1,4}

Plus intéressant encore est la capacité des CYP450s à catalyser l'insertion d'atomes d'oxygène dans les liaisons C-H de substrats aussi peu actifs que les composés aliphatiques saturés, et ce, de manière hautement sélective. Un exemple probant est apporté par l'hydroxylation régio- et énantiospécifique (ee = 100%) du camphre catalysée par le cytochrome P450 de *Pseudomonas putida*, appelé aussi camphre hydroxylase ou plus simplement CYP450_{cam} (Schéma I-1).^{3a,5,6}

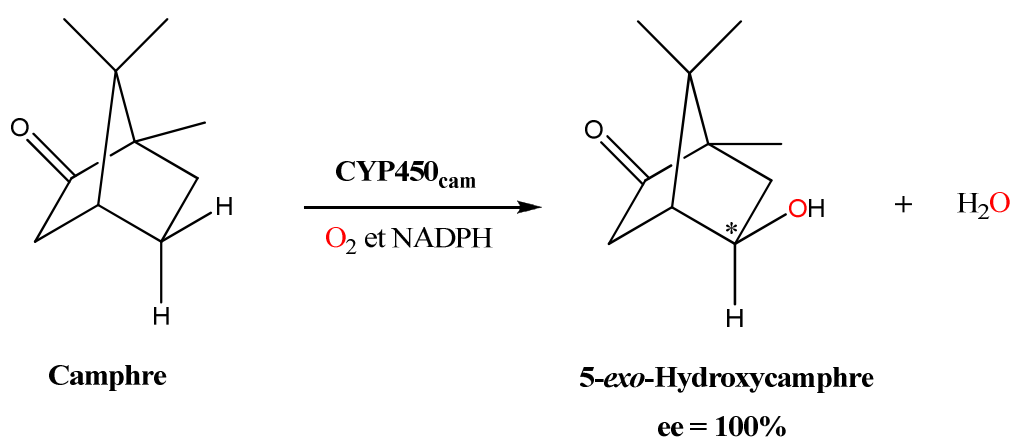


Schéma I-1. Hydroxylation régio- et énantiospécifique du camphre catalysée par la camphre hydroxylase CYP450_{cam}.

De nombreuses études spectroscopiques et structurales, menées sur les CYP450s et des composés modèles des sites actifs de ces hémoprotéines, ont permis d'établir un mécanisme réactionnel du cycle catalytique par lequel s'effectue l'activation de l'oxygène moléculaire et l'oxygénation subséquente des liaisons C-H et C=C.^{1,7}

Le cycle catalytique actuellement admis des CYP450s est représenté sur le Schéma I-2 ci-dessous.

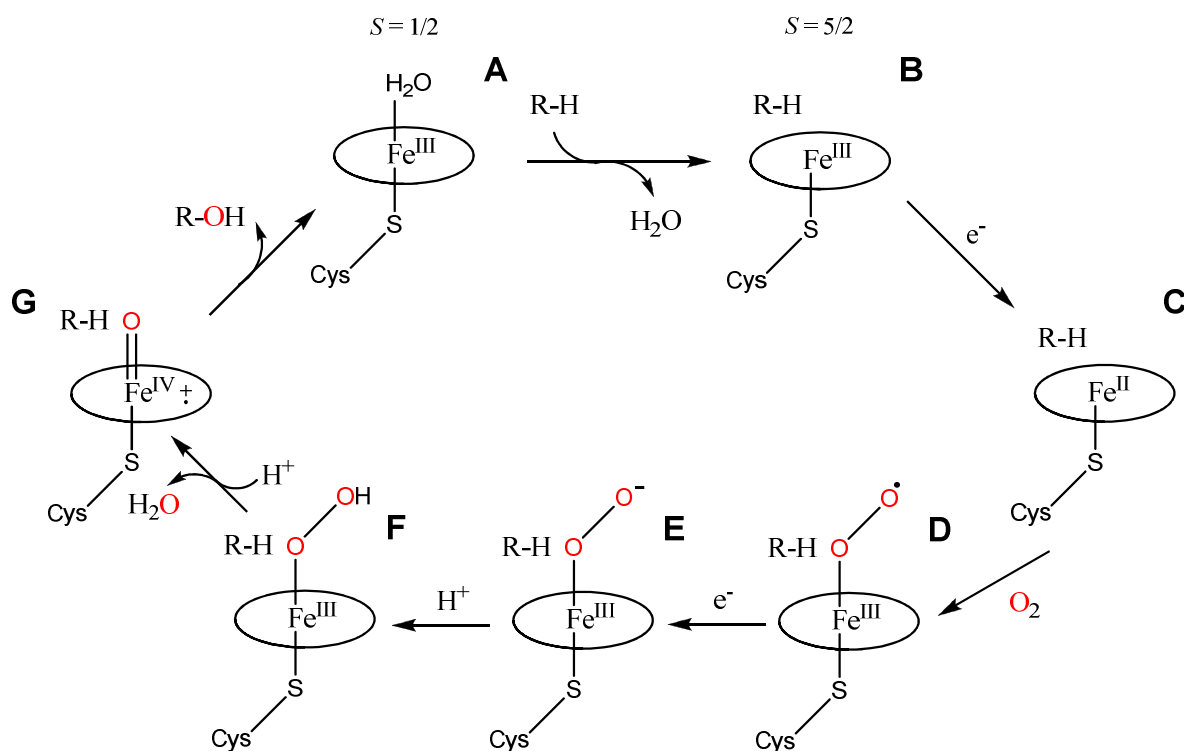


Schéma I-2. Mécanisme du cycle catalytique du cytochrome P450 lors de l'hydroxylation d'une liaison C-H d'un alcane.

A l'état natif, le fer est sous la forme d'un ion Fe^{III} avec une molécule d'eau liée dessus (**A** sur le Schéma I-2). L'arrivée du substrat à proximité du site actif induit le départ de la molécule d'eau, l'ion Fe^{III} se retrouve alors pentacoordiné avec un changement de l'état de spin (**B**). En effet, de bas-spin ($S = 1/2$), il devient haut-spin ($S = 5/2$), ce qui se traduit par une augmentation de son potentiel redox facilitant ainsi sa réduction en ion Fe^{II} par un électron provenant du NADPH (**C**).⁸ En conséquence, une molécule de dioxygène peut ensuite interagir avec l'ion Fe^{II} pour donner une espèce de type Fe(III)-superoxo (**D**) qui a été étudiée par résonance Raman.⁹ Une seconde réduction monoélectronique conduit à un intermédiaire Fe(III)-peroxo (**E**) qui, après protonation, donne un intermédiaire Fe(III)-hydroperoxo, appelé aussi composé 0 (**F**). Les composés **E** et **F** ont été caractérisés par résonance Raman, RPE et ENDOR lors de la cryoréduction du composé **D** à 77 K.¹⁰ Une seconde protonation a pour conséquence la coupure hétérolytique de la liaison O-O du peroxyde avec la libération d'une molécule d'eau et la formation d'une espèce de type $\text{Fe}^{\text{IV}}=\text{O}$ (espèce oxoferryle ou composé I) avec un radical π -cationique délocalisé sur la porphyrine (**G**). Il est à noter que l'intermédiaire **G** peut être aussi considéré comme une entité de type $\text{Fe}^{\text{V}}=\text{O}$ si il n'y a pas délocalisation d'un électron sur la porphyrine. En 2000, Schlichting et coll. ont réalisé des études structurales novatrices en parvenant à piéger certains intermédiaires du cycle catalytique de

CYP450_{cam}, et notamment, celle de l'espèce oxoferryle, et donc d'en déterminer la structure (Figure I-2).⁶

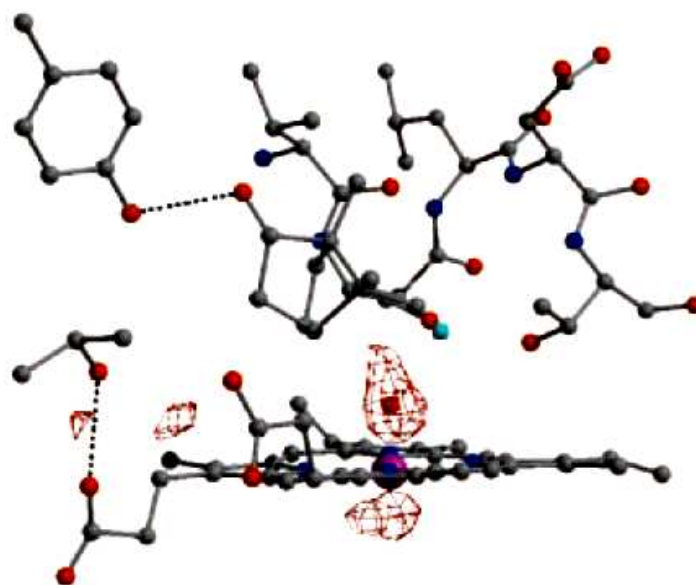


Figure I-2. Structure cristallographique de l'espèce oxoferryle de la camphre hydroxylase. Les atomes d'oxygène sont représentés en rouge, ceux d'azote en bleu et celui du fer en mauve.⁶

Bien que l'espèce $\text{Fe}^{\text{IV}}=\text{O}$ soit reconnue comme directement impliquée dans l'oxygénation de substrats organiques, il existe toujours des controverses sur la nature exacte du (ou des) oxydant(s) potentiel(s) responsable(s) du transfert d'un atome d'oxygène sur une liaison C-H ou C=C. En effet, il est proposé que les espèces Fe(III)-superoxo et Fe(III)-(hydro)peroxo soient des oxydants potentiels, en plus de l'intermédiaire Fe(IV)-oxo.¹¹

II- Les enzymes à fer non héminique

Les enzymes à fer non héminique constituent un important groupe de métalloenzymes activant le dioxygène, et qui sont impliquées dans pléthore de voies métaboliques faisant intervenir l'oxydation de molécules chimiquement inertes comme les alcanes, les alcènes, ainsi que les composés aromatiques. Les réactions d'oxygénation catalysées par ces métalloenzymes sont régio- et stéréospécifiques, elles possèdent donc les mêmes propriétés catalytiques que les cytochromes P450. Toujours est-il que celles-ci ne possèdent pas de groupement prosthétique héminique leur permettant de délocaliser un électron provenant du fer à haut degré d'oxydation sur la porphyrine et ainsi stabiliser l'espèce fer-oxo. Cette

constatation rend d'autant plus intéressante l'étude du mécanisme par lequel les enzymes à fer non héminique activent l'oxygène moléculaire et transfèrent un des atomes d'oxygène sur des substrats organiques inertes. Plus précisément, la question est de savoir si un intermédiaire aussi peu stable que $\text{Fe}^{\text{V}}=\text{O}$ peut intervenir dans les systèmes de fer ne possédant pas de ligand porphyrinique.

Les enzymes à fer non héminique sont divisées en deux sous-groupes : les enzymes mononucléaires et dinucléaires de fer non héminique.

II-1. Les enzymes mononucléaires de fer non héminique

Durant ces vingt dernières années, les études de diffractions aux rayons X sur un nombre croissant de métalloenzymes ont fourni d'intéressantes données structurales sur les oxygénases mononucléaires de fer non héminique, notamment la découverte d'un motif structural commun, à savoir la triade faciale 2-His-1-carboxylate (His = histidine). Celui-ci consiste en un ion fer(II) coordiné par trois résidus de la protéine : deux histidines et un aspartate/glutamate (Asp/Glu). Ce motif de coordination constitue la face d'un octaèdre permettant la présence de deux ou trois sites labiles sur le fer selon que le carboxylate est monodentate ou bidentate. Ces sites confèrent ainsi une flexibilité mécanistique par la fixation de différents ligands exogènes comme des substrats, des cosubstrats et une molécule de dioxygène.¹²⁻¹⁵

Les enzymes mononucléaires de fer non héminique forment une vaste famille d'enzymes subdivisée en quatre sous-familles selon les réactions catalysées et la nature du cosubstrat ou du cofacteur requis pour la catalyse : les intra- et extradiol dioxygénases, les dioxygénases de Rieske, les hydroxylases ptérine-dépendantes, les dioxygénases α -cétoglutarate dépendantes et les oxydases intervenant dans la biosynthèse d'antibiotiques (Figure I-3).^{13,15,16}

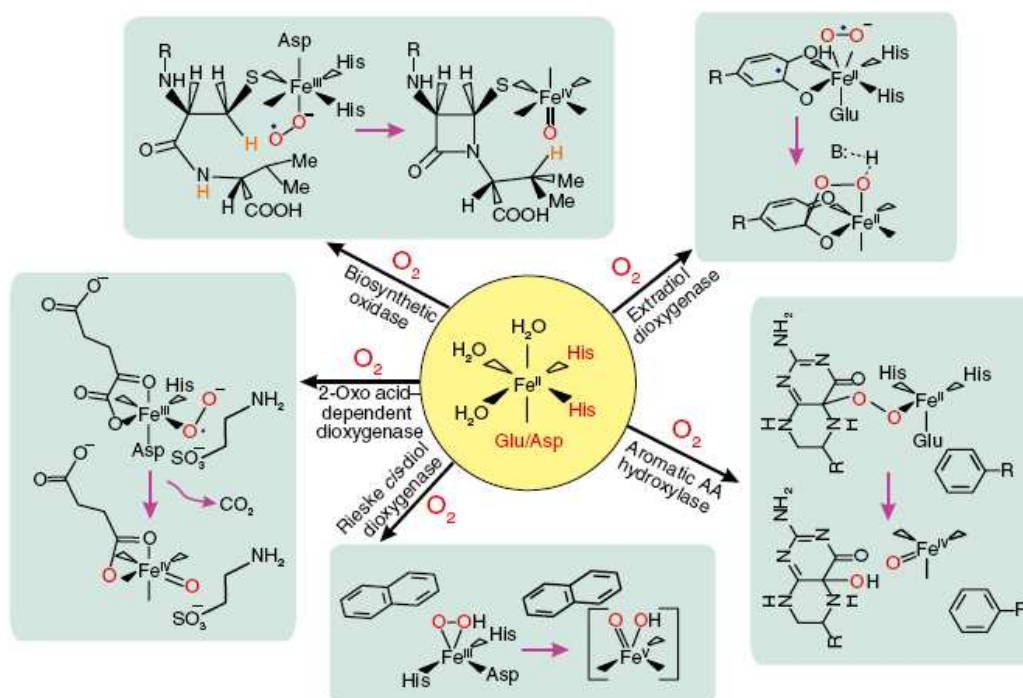


Figure I-3. Illustration de la flexibilité réactionnelle des oxygénases contenant la triade faciale 2-His-1-carboxylate. Aromatique AA hydroxylase = hydroxylase des acides aminés aromatiques = hydroxylase ptérine-dépendantes. Dioxygénase 2-oxo acide dépendante = dioxygénase α -cétooglutarate dépendante.¹⁵

Nous parlerons seulement de deux catégories de ces enzymes, à savoir les dioxygénases de Rieske et les dioxygénases α -cétooglutarate-dépendantes avec la description d'une enzyme représentative de chaque groupe : la naphthalène dioxygénase pour le premier et la taurine dioxygénase pour le second. Ces choix ont été motivés par l'importance de ces enzymes dans leurs caractéristiques catalytiques en termes de variabilités des substrats et des réactions, mais aussi dans les découvertes que leurs études ont apportées quant au mécanisme de leurs cycles catalytiques.

II-1.1. Les dioxygénases de Rieske

Les dioxygénases de Rieske sont des enzymes des bactéries du sol qui initient la biodégradation de composés aromatiques toxiques en catalysant la *cis*-dihydroxylation énantiospécifique de doubles liaisons d'alcènes et d'arènes. Il existe un grand nombre de ces enzymes parmi lesquelles se trouvent la benzoate dioxygénase, la toluène dioxygénase et la phtalate dioxygénase (Schéma I-3).¹⁷

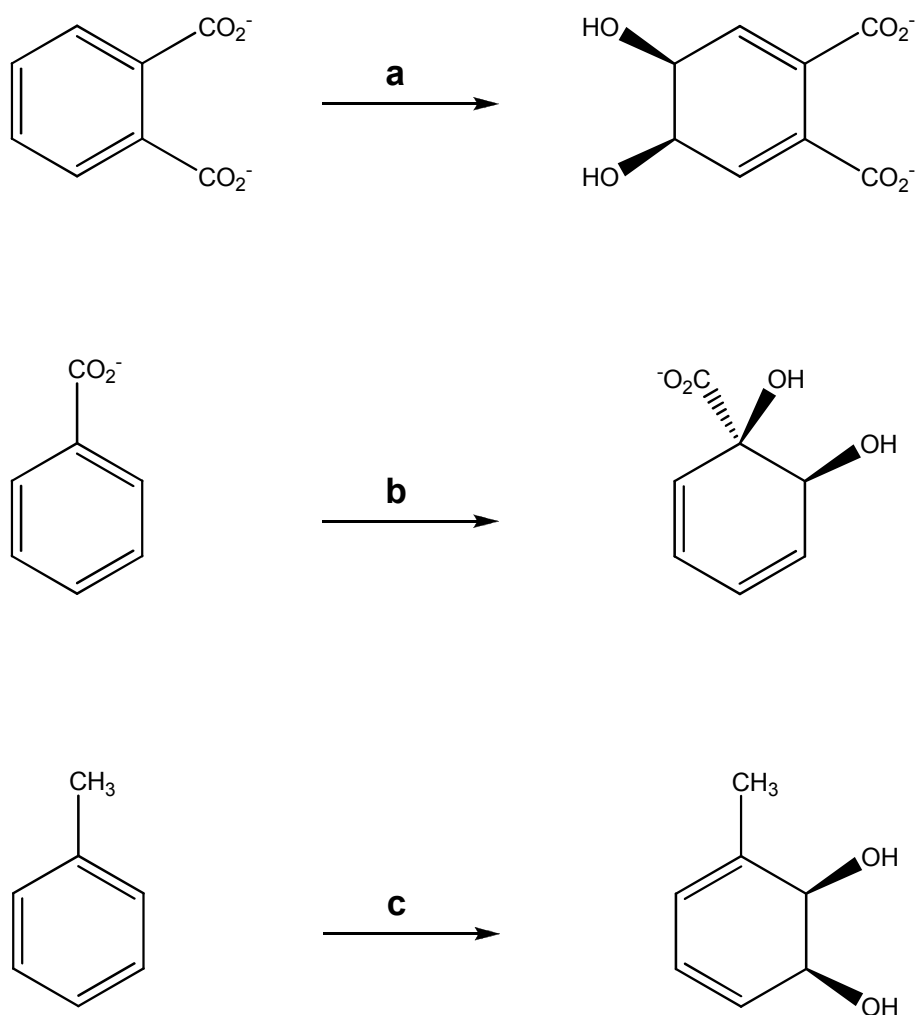


Schéma I-3. Quelques exemples de réactions catalysées par les dioxygénases de Rieske, (a) Phthalate 4,5-dioxygénase.^{18a} (b) Benzoate 1,2-dioxygénase.^{18b} (c) Toluène 2,3-dioxygénase.^{18c}

La dioxygénase de Rieske qui a été la plus étudiée, et dont la structure cristallographique a été déterminée en premier pour cette famille, est la naphtalène 1,2-dioxygénase.

✓ *La naphtalène 1,2-dioxygénase*

La naphtalène 1,2-dioxygénase issue de *Pseudomonas* sp. NCIB 9816-4, catalyse la *cis*-dihydroxylation du naphtalène à partir de dioxygène et de NAD(P)H pour conduire au *cis*-(1*R*,2*S*)-1,2-dihydronaphtalène-1,2-diol (Schéma I-4).^{18d}

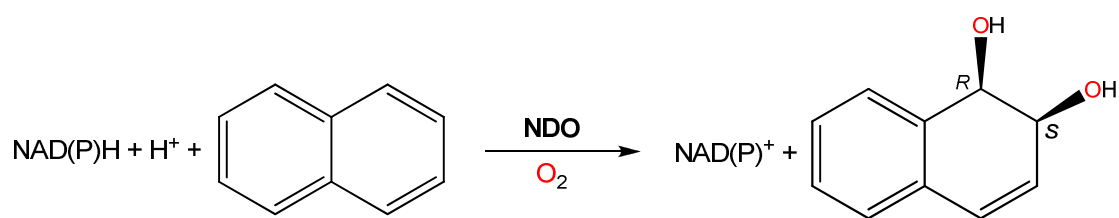


Schéma I-4. Oxydation énantiospécifique du naphthalène catalysée par la naphthalène 1,2-dioxygénase.^{18d}

Pour la naphthalène 1,2-dioxygénase (et les autres dioxygénases de Rieske), il faut plutôt parler d'un système multienzymatique à trois composantes : une réductase (NDR) contenant un cofacteur flavinique (FAD) et un centre $[2\text{Fe-2S}]$, une protéine de transport d'électrons de type ferrédoxine (NDF) possédant elle aussi un centre $[2\text{Fe-2S}]$, et une dioxygénase (NDO) qui se présente sous la forme d'un hexamère $\alpha_3\beta_3$ contenant un centre $[2\text{Fe-2S}]$ de Rieske ainsi qu'un site mononucléaire de fer localisés dans chaque sous-unité α constituant le centre catalytique de l'enzyme (Schéma I-5).^{18d,19}

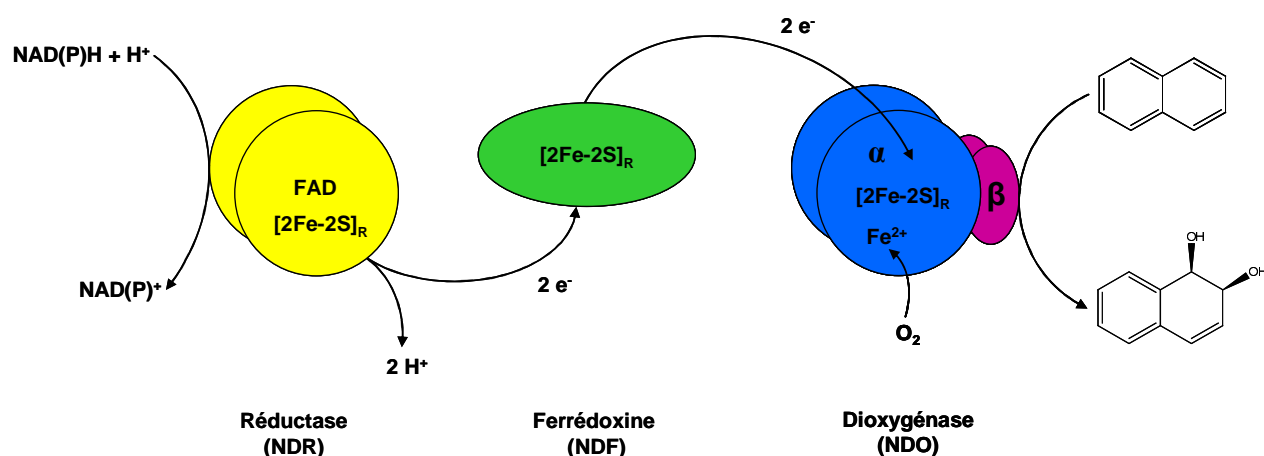


Schéma I-5. Organisation fonctionnelle des différentes composantes de la naphthalène 1,2-dioxygénase.

Des études menées en RPE et stopped-flow ont montré que seule la composante oxygénase (NDO) est impliquée dans l'activation de l'oxygène moléculaire et la dihydroxylation subséquente du substrat aromatique. Quant à la ferrédoxine (NDF), son rôle est de transférer les électrons de la composante réductase (NDR) à la composante oxygénase réduisant un des fers du centre $[2\text{Fe-2S}]$ de Rieske et le fer mononucléaire, permettant ainsi un nouveau cycle catalytique.^{18d} Plus important encore est la mise en exergue, par ces travaux, de la faculté de l'enzyme à réguler son activité catalytique en contrôlant l'accessibilité de

l'oxygène moléculaire au site catalytique en fonction de l'état redox du centre de Rieske et de la présence du substrat au niveau du site actif. En effet, la liaison d'une molécule de dioxygène sur le fer mononucléaire ne peut se faire que si le centre de Rieske est réduit et le substrat présent.^{18d}

Les deux atomes d'oxygène présents dans le naphthalène *cis*-dihydrodiol proviennent d'une seule et même molécule de dioxygène, ce qui suggère une réaction concertée entre le réactif et l'espèce oxydante. Néanmoins, le mécanisme exact et détaillé de la catalyse de *cis*-dihydroxylation réalisée par la naphthalène 1,2-dioxygénase (et les autres dioxygénases de Rieske) n'est pas encore clairement défini. Ceci dit, des études structurales effectuées sur des cristaux de la composante NDO en présence de substrat ont montré une liaison en "side-on" d'un peroxyde sur l'ion ferrique (Figure I-5).²⁰

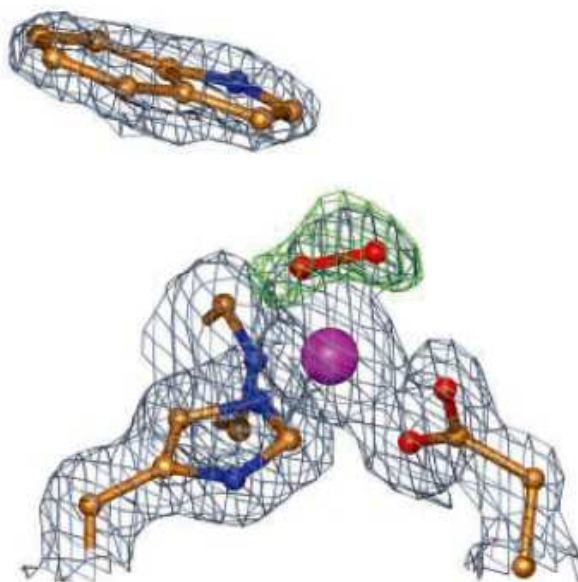


Figure I-5. Liaison d'un peroxyde en "side-on" sur l'ion Fe^{III} de la naphthalène 1,2-dioxygénase en présence d'indole. Les atomes de carbone sont représentés en jaune doré, ceux d'oxygène en rouge, ceux d'azote en bleu et celui du fer en mauve.²⁰

Cette observation conforte la proposition selon laquelle l'espèce active responsable de la dihydroxylation serait un fer(III)-hydroperoxo de type $\text{Fe}^{\text{III}}-(\eta^2\text{-OOH})$. Ainsi, une telle conformation du peroxyde permettrait un transfert stéréospécifique des deux atomes d'oxygène sur la double liaison du substrat (étape C sur Schéma I-6).^{20,21}

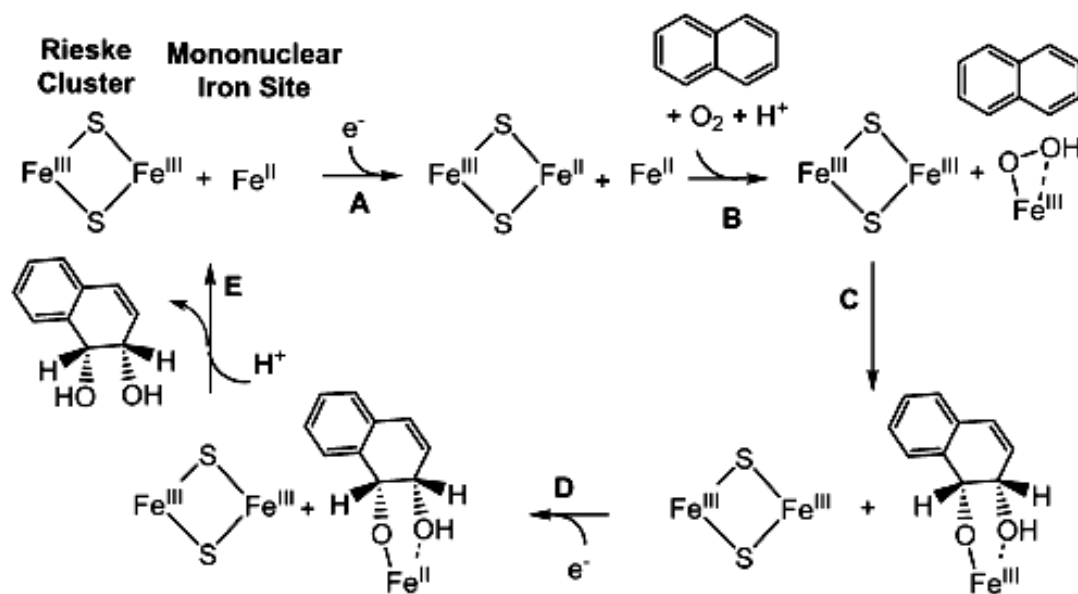


Schéma I-6. Cycle catalytique de la naphthalène 1,2-dioxygénase avec l'intervention d'un fer(III)-hydroperoxy en "side-on".²¹

Le mécanisme réactionnel du cycle catalytique de la naphthalène 1,2-dioxygénase (Schéma I-6) apporte une compréhension sur les relations structure/activité des dioxygénases de Rieske. En effet, le dioxygène peut se coordonner en mode "side-on" sur l'ion Fe^{III} du fait de la présence de deux sites labiles adjacents orientés en *cis*, hypothèse déjà envisagée en 1999 suite aux travaux en catalyse homogène de Que et coll.²² Ceci dit, l'intervention d'une espèce à haut degré d'oxydation de type fer(V)-oxo-hydroxo n'est pas à exclure comme l'attestent des expériences d'oxydation effectuées sur le norcarane et le bicyclohexane dont les réarrangements, suite à la monooxygénation catalysée par la naphthalène 1,2-dioxygénase, ne s'expliquent qu'en faisant appel à un mécanisme radicalaire impliquant une espèce fer-oxo à haut degré d'oxydation.²³ Plus probant encore en ce sens sont les études en chimie bio-inspirée de Que et coll. dont les expériences de marquage avec ^{18}O lors de la *cis*-dihydroxylation du naphthalène réalisée avec un complexe de fer non hémique, le complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{TPA})(\text{NCMe})_2](\text{OTf})_2$, ont révélé l'intervention d'un intermédiaire $\text{Fe}(\text{V})(\text{O})(\text{OH})$. Par conséquent, Que et coll. ont proposé un schéma mécanistique pour le cycle catalytique de leur complexe qui pourrait être proche de celui de la naphthalène 1,2-dioxygénase (Schéma I-7).²⁴

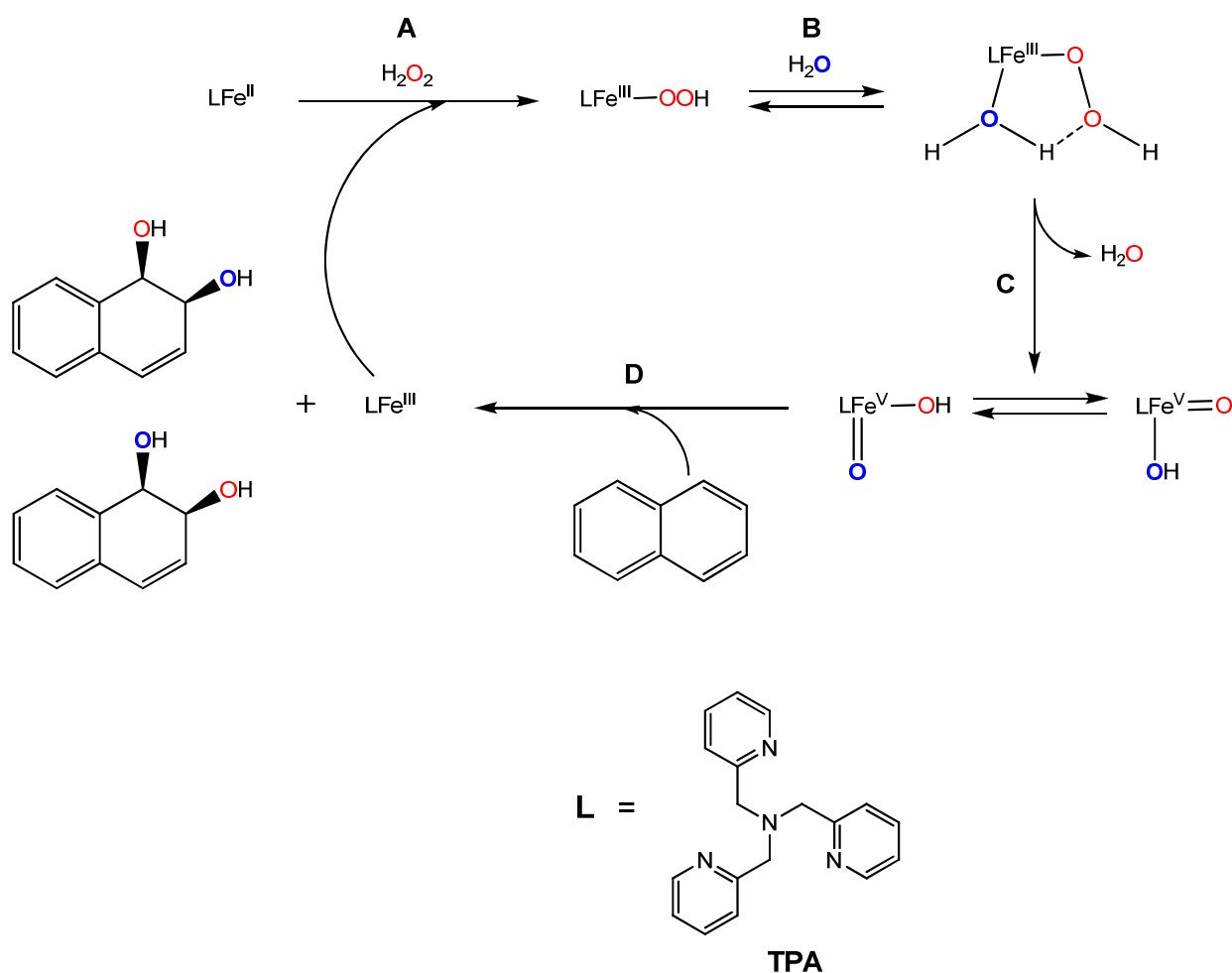


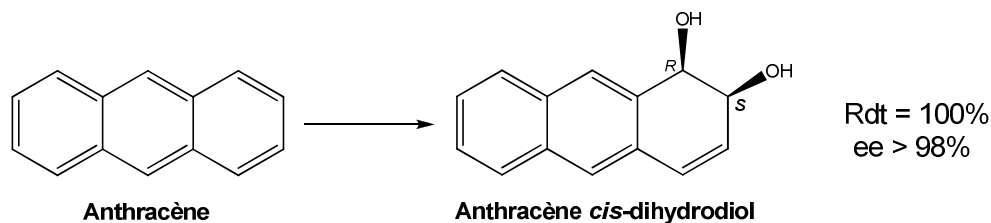
Schéma I-7. Mécanisme proposé pour la *cis*-dihydroxylation du naphthalène catalysée par le complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{TPA})(\text{NCMe})_2](\text{OTf})_2$. L'atome ^{18}O de l'eau est représenté en bleu.²⁴

Le cycle catalytique proposé par Que et coll. débute par la réaction entre une molécule de peroxyde d'hydrogène et le fer(II) pour aboutir à un fer(III)-hydroperoxo en mode de coordination "end-on" (étape **A**). Une molécule d'eau vient ensuite se lier sur l'ion ferrique (étape **B**) et, permet la protonation de l'oxygène distal de l'hydroperoxo facilitant la rupture hétérolytique de la liaison O-O donnant un intermédiaire $\text{Fe}(\text{V})(\text{O})(\text{OH})$ avec le départ d'une molécule d'eau (étape **C**). L'attaque du naphthalène par cette espèce à haut degré d'oxydation aboutit à la *cis*-dihydroxylation de ce substrat (étape **D**).

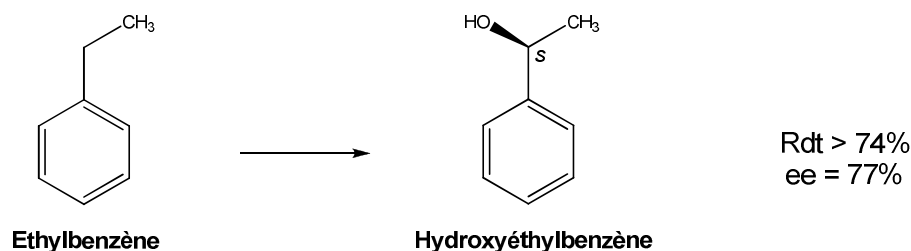
La naphthalène dioxygénase est capable de catalyser – outre la dihydroxylation du naphthalène – la dihydroxylation de plusieurs molécules aromatiques polycycliques telles que l'indène, l'anthracène, le phénanthrène, ou encore le fluorène. En outre, elle a la propriété de catalyser diverses autres réactions d'oxydation incluant la monohydroxylation, la

désaturation, les *O*- et *N*-désalkylations et la sulfoxydation, et ce, sur une large gamme de substrats avec une haute énantiosélectivité (Schéma I-8).²⁵

cis-Dihydroxylation de composés aromatiques



Monohydroxylation



Sulfoxydation

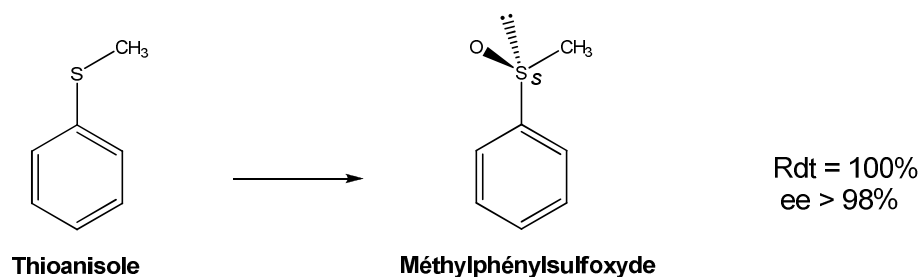


Schéma I-8. Description de trois réactions d'oxydation énantiosélective catalysées par la naphtalène 1,2-dioxygénase.²⁵

La naphtalène dioxygénase rivalise avec les cytochromes P450 pour ce qui est de la variabilité réactionnelle. Cette propriété lui confère un statut particulier en ce qui concerne la bioremédiation pour la dégradation de composés aromatiques toxiques, mais aussi en biocatalyse du fait de sa haute énantiosélectivité pour la synthèse asymétrique de composés à hautes valeurs ajoutées ayant des intérêts dans les domaines pharmaceutique ou agroalimentaire.²⁵

II-1.2. Les dioxygénases α -cétoglutarate-dépendantes

Les dioxygénases α -cétoglutarate-dépendantes constituent la sous-famille la plus importante des oxygénases mononucléaires de fer contenant la triade faciale 2-His-1-carboxylate, et ce, tant au niveau du nombre que de la variabilité de réactions catalysées. De plus, la plupart de ces enzymes ont une grande importance dans les domaines de l'environnement, de la pharmacologie et de la médecine.²⁶ En effet, certaines interviennent dans la biosynthèse d'antibiotiques comportant un cycle β -lactame (isopénicilline N synthase, désacétoxycephalosporine C synthase et acide clavamique synthase),²⁷ et du collagène.²⁸ Elles ont aussi un rôle dans la dégradation de xénobiotiques,²⁹ la réparation d'ADN et d'ARN alkylés,³⁰ et la réponse à l'hypoxie.³¹

Toutes ces enzymes ont en commun l'utilisation de l' α -cétoglutarate (α -CG) comme cosubstrat pour faciliter leurs réactions respectives en couplant à l'activation réductrice du dioxygène la décarboxylation oxydative de α -CG, donnant ainsi le substrat hydroxylé, le succinate et le dioxyde de carbone (Schéma I-9).³²

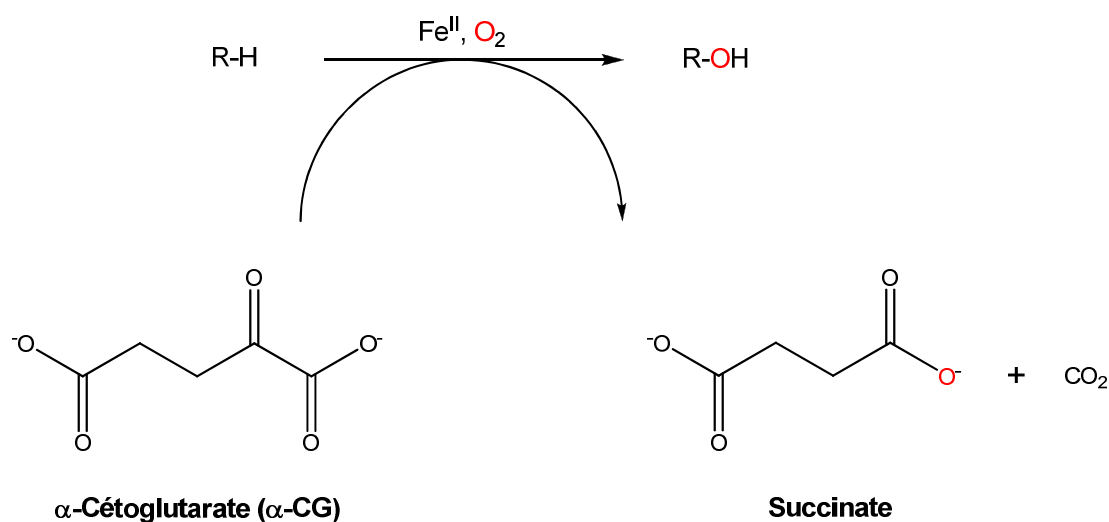


Schéma I-9. Mécanisme général d'hydroxylation commun à la plupart des dioxygénases α -CG-dépendantes.³²

Le mécanisme réactionnel sera décrit plus en détail en prenant la taurine/ α -CG dioxygénase de *E. coli* comme exemple pour l'illustration de ce type d'oxygénases. En effet, cette enzyme est la plus étudiée parmi les dioxygénases α -CG-dépendantes. Qui plus est, c'est au niveau de cette enzyme que fut mis en évidence pour la première fois une espèce de type $\text{Fe}^{\text{IV}}=\text{O}$ par différentes études spectroscopiques.³³

✓ *La taurine/ α -cétoglutarate dioxygénase*

Lors d'une carence en sulfate dans le milieu, la bactérie *E. coli* est capable de se fournir en soufre à partir de sulfonates aliphatiques grâce à l'action d'oxygénases α -CG-dépendantes. L'une de ces enzymes, la taurine/ α -CG dioxygénase (notée plus simplement TauD), catalyse l'hydroxylation de la taurine (2-aminoéthane sulfonate) conduisant à un composé instable qui se décompose en 2-aminoacétaldéhyde et en sulfite, ce dernier étant une source de soufre pour la bactérie. Cette réaction est couplée à la décarboxylation oxydative de α -CG conduisant à du succinate (Schéma I-10).³²

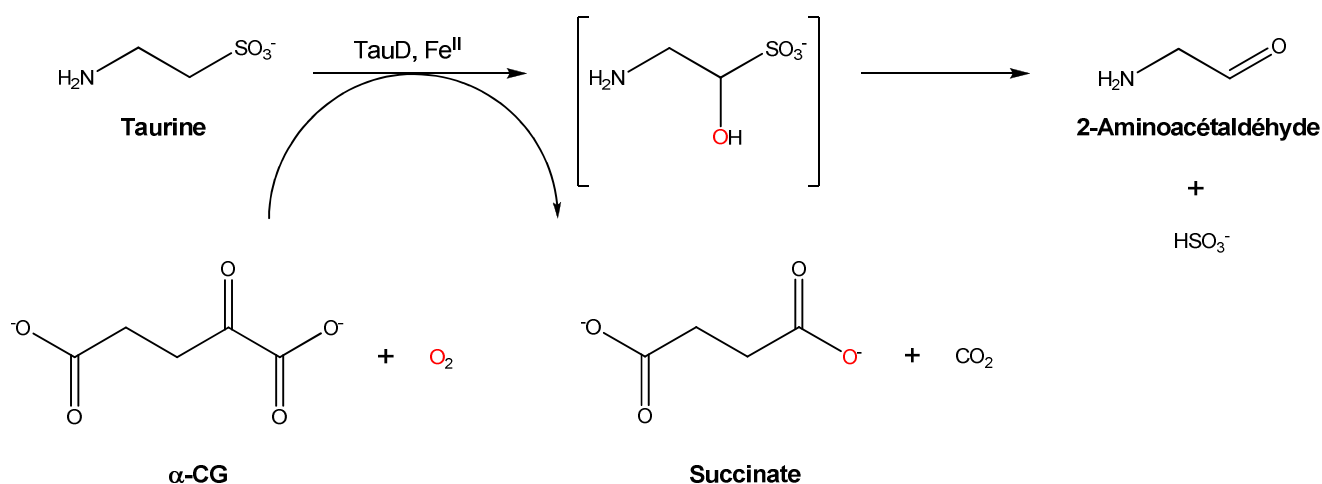


Schéma I-10. Réaction catalysée par la taurine/ α -CG dioxygénase.³²

L'enzyme TauD se présente sous la forme d'un homodimère stabilisé par des liaisons hydrogène entre les monomères. Pour chaque monomère, la chaîne polypeptidique contient dix-sept brins β dont huit forment un motif "jelly roll" où se trouve le site actif. Celui-ci est constitué d'un ion ferreux lié à la protéine par deux résidus histidine et un résidu aspartate (Figure I-6).³²

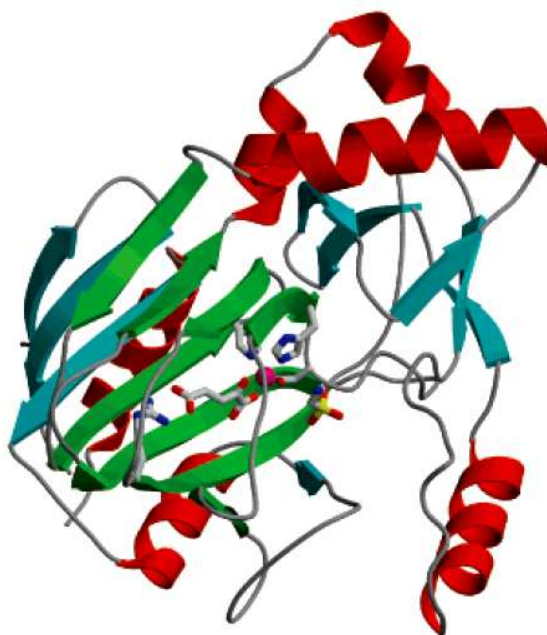


Figure I-6. Structure cristallographique d'un monomère de TauD. Le motif "jell roll" est coloré en vert. Au niveau de site actif, les atomes d'oxygène sont colorés en rouge, ceux d'azote en bleu et celui du soufre de la taurine en jaune.³²

Différentes études structurales et spectroscopiques ont montré qu'à l'état natif, l'ion ferreux a une géométrie octaédrique, celui-ci étant coordonné par la triade faciale et trois molécules d'eau complétant la sphère de coordination (A sur le Schéma I-11).²⁶

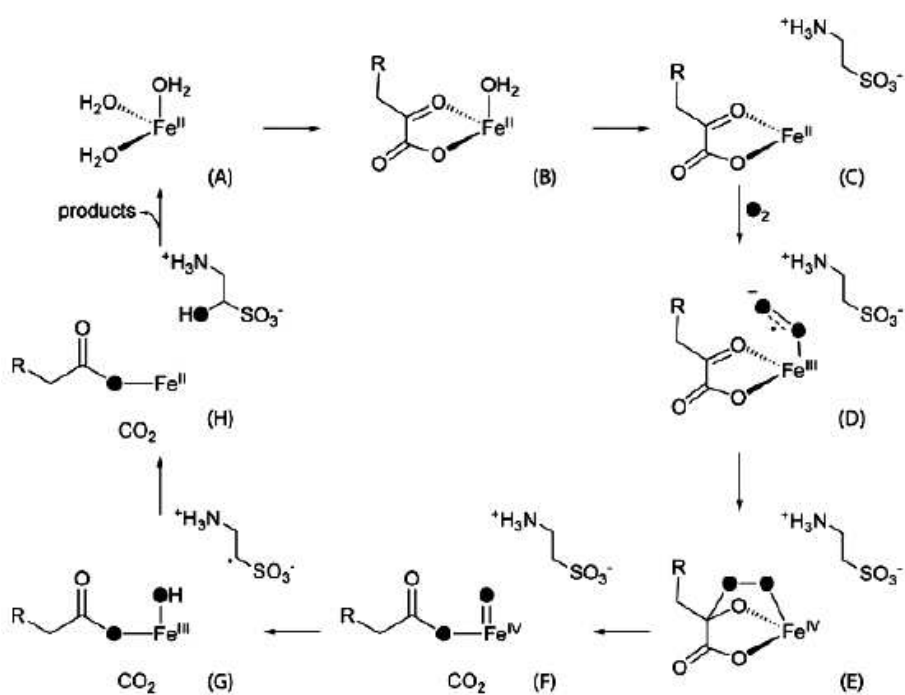


Schéma I-11. Mécanisme du cycle catalytique de la taurine/ α -CG dioxygénase.²⁶

Lors d'un cycle catalytique, une molécule de α -CG vient se lier en premier sur le fer de manière bidentate déplaçant ainsi deux molécules d'eau (**B**). La taurine induit le départ de la dernière molécule d'eau en venant se positionner à proximité du fer sans s'y lier directement (**C**). A ce stade, le fer est pentacoordiné, et un dernier site est libre pour la fixation de l'oxygène moléculaire. En conséquence, il existe un mécanisme de régulation par le substrat de l'activation du dioxygène, évitant ainsi la formation d'espèces réactives de l'oxygène qui induiraient l'oxydation de résidus de l'enzyme amenant à son inactivation.

Cependant, l'hydroxylation d'acides aminés du site actif a été observée en l'absence de substrat, et ce, pour TauD, mais aussi pour d'autres oxygénases α -CG-dépendantes.³⁴ Il n'en reste pas moins qu'en présence du substrat, l'oxygène moléculaire se fixe sur le centre métallique conduisant à un intermédiaire de type fer(III)-superoxo (**D**) ayant un caractère "radical-anion" assez marqué.³⁵ Une attaque nucléophile sur le carbonyle en α du carboxylate par le superoxyde va mener à une espèce ferryle cyclique comportant un pont peroxo (**E**). Un réarrangement subséquent de ce cycle va produire du succinate, du dioxyde de carbone et une entité $\text{Fe}^{\text{IV}}=\text{O}$ responsable de l'hydroxylation de la taurine (**F**). Cet intermédiaire a été caractérisé par spectroscopie Mössbauer,³⁶ EXAFS,³⁷ et résonance Raman.³⁸

L'hydroxylation de la taurine par l'espèce $\text{Fe}^{\text{IV}}=\text{O}$ s'opère par l'arrachement d'un atome d'hydrogène d'une liaison C-H située en α du sulfonate, selon un mécanisme radicalaire, réduisant l'ion Fe^{IV} en ion Fe^{III} (**G**). Ce mécanisme a été étayé par l'observation d'un grand effet cinétique isotopique, où les atomes d'hydrogène de la taurine étaient remplacés par du deutérium, lors de la décroissance de cette espèce à haut degré d'oxydation.³⁹

Le radical présent sur la taurine va ensuite se combiner avec le radical hydroxyle coordonné à l'ion Fe^{III} pour aboutir à la taurine hydroxylée avec la réduction concomitante de l'ion Fe^{III} en ion Fe^{II} (**H**). Après le départ du produit hydroxylé, un nouveau cycle peut alors commencer.

Il est important de noter que ce fut la première fois que l'existence d'une espèce fer-oxo à haut degré d'oxydation était confirmée pour un système enzymatique.³⁶

II-2. Les enzymes dinucléaires de fer non héminique

Durant les années 1990 furent découvertes une pléthore d'enzymes possédant au sein de leurs sites actifs un centre dinucléaire de fer non héminique où les deux ions fer sont

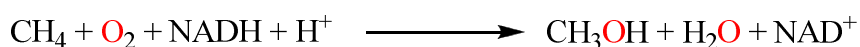
pontés par un ligand oxo ou hydroxo, ainsi que par des carboxylates provenant de résidus glutamate et/ou aspartate, les autres ligands étant des imidazoles de résidus histidines.⁴⁰

Le premier membre de cette classe à avoir eu sa structure bien caractérisée n'est pas une enzyme, mais un transporteur de l'oxygène moléculaire présent chez les invertébrés marins. Il s'agit de l'hémérythrine, la seule métalloprotéine connue à ce jour transportant le dioxygène via un centre dinucléaire de fer non hémunique.⁴¹

Les enzymes possédant ce motif ont la capacité de lier et d'activer l'oxygène moléculaire avec la catalyse subséquente de nombreuses réactions d'oxydation importantes du métabolisme des êtres vivants. A ce titre, nous pouvons citer la ribonucléotide réductase qui réalise la réduction des ribonucléotides en désoxyribonucléotides, précurseurs de l'ADN,⁴² la stéaroyle-ACP Δ^9 -désaturase, enzyme des plantes qui introduit une double liaison à la position 9,10 du stéaroyle-ACP donnant l'oléyl-ACP,^{42c,43} mais aussi les toluène monooxygénases, la phénol hydroxylase et les phosphatase acides pourpres.^{42c,44} Parmi cette classe de métalloenzymes, la méthane monooxygénase retiendra particulièrement notre attention par sa remarquable propriété d'oxyder le méthane en méthanol.

✓ *La méthane monooxygénase*

L'activation de liaisons C-H inertes représente une véritable gageure pour les chimistes. Or, la méthane monooxygénase (MMO) possède la capacité d'hydroxyler sélectivement le méthane en méthanol (pas de suroxydation) en milieu aqueux et en conditions douces de température et de pression, cette réaction s'effectuant par l'activation réductrice NADH-dépendante du dioxygène comme le montre l'équation ci-dessous :



Cette réaction se déroule chez les bactéries méthanotrophes qui utilisent le méthane comme seule source d'énergie et de carbone.⁴⁵ Les deux types de méthane monooxygénase qui ont été les plus étudiées proviennent des bactéries *Methylococcus capsulatus* (Bath) et *Methylosinus trichosporium* (OB3b). Ces enzymes existent sous deux formes différentes, une membranaire désignée par le sigle MMOp, et une présente dans le cytosol appelée méthane monooxygénase soluble (MMOs). MMOp contient trois ions cuivre et, récemment, un centre dinucléaire de fer a été découvert.⁴⁶ Il n'en reste pas moins que c'est MMOs qui a été la plus étudiée jusqu'à présent. Celle-ci correspond à un complexe multiprotéique dont chacune des composantes a un rôle indispensable pour le bon déroulement de la réaction (Figure I-7).^{42c}

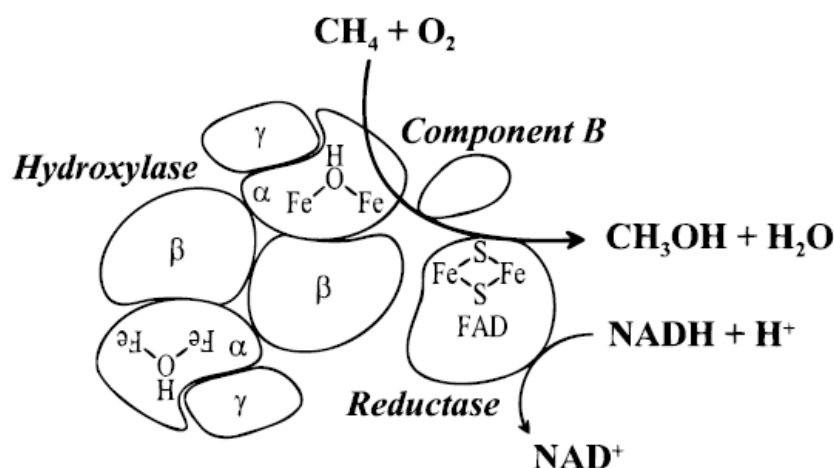


Figure I-7. Organisation des différentes composantes de MMOs avec leurs rôles respectifs.^{42c}

La composante hydroxylase (MMOH) est un dimère de 251 kDa où chaque monomère contient trois sous-unités notées $\alpha\beta\gamma$, les deux sous-unités α contenant chacune un centre dinucléaire de fer non héminique (Figure I-8).^{47,48}

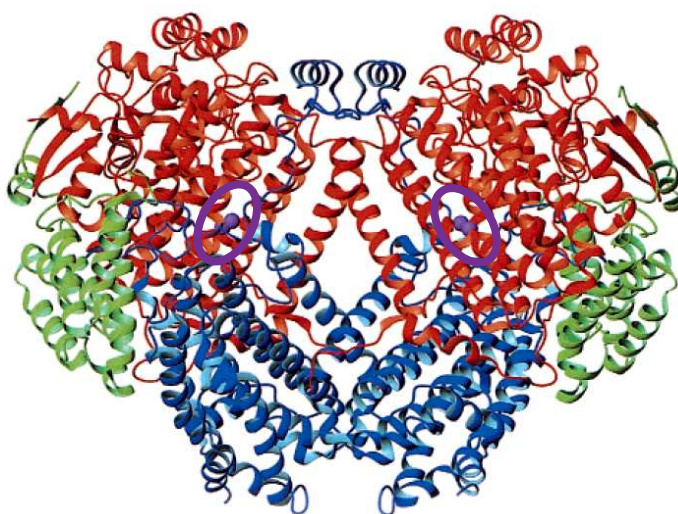


Figure I-8. Structure cristallographique de la composante hydroxylase de la méthane monooxygénase de *M. capsulatus* (Bath). La sous-unité α est colorée en rouge, la sous-unité β en bleu et la sous-unité γ en vert. Les atomes de fer sont entourés par des ellipses mauves.^{47b}

La composante réductase (MMOR) consiste en un monomère de 38,5 kDa contenant un centre [2Fe-2S] et un cofacteur FAD lui permettant d'assurer le transfert des électrons du NADH vers le site actif de MMOH.⁴⁹ La troisième composante (MMOB) est un monomère de

15,8 kDa dépourvu de métaux et de cofacteurs et ayant un rôle de régulateur ; cette composante est aussi désignée sous le terme de protéine de couplage du fait qu'elle permet le couplage entre la consommation d'électrons provenant du NADH et l'oxydation du substrat.⁵⁰

L'activation de l'oxygène moléculaire et l'hydroxylation du méthane se déroulent au niveau des centres dinucléaires de fer non hémique présents dans les sous-unités α de la composante hydroxylase.⁴⁷ A l'état natif de MMOH (MMOH_{ox}), les deux ions Fe^{III} sont coordonnés par deux résidus histidine, quatre résidus glutamate et une molécule d'eau. Les deux ions sont pontés par un hydroxyde et une molécule d'eau (Figure I-9).^{42c}

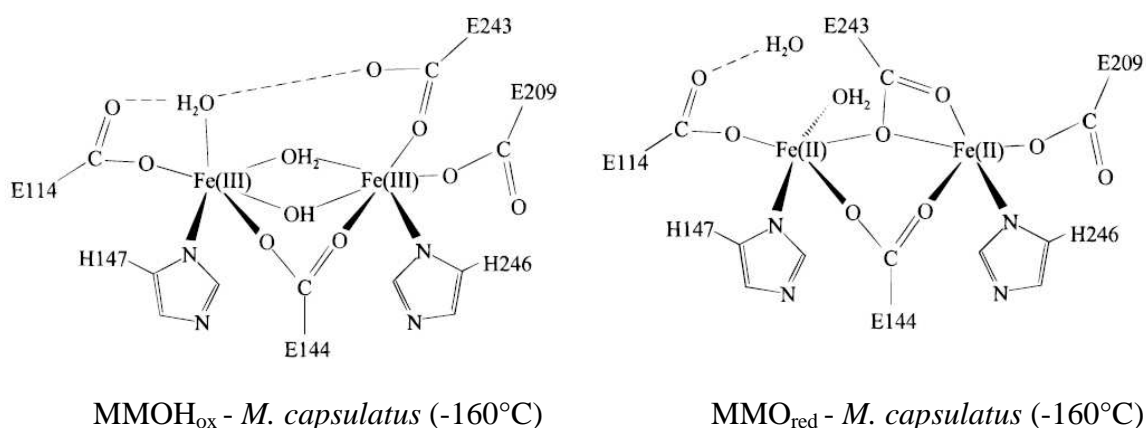


Figure I-9. Structure des centres dinucléaires de fer de MMO à l'état oxydé et à l'état réduit.^{42c}

A noter que dans certains cas, il se trouve une molécule d'acétate pontante, ceci étant dû aux conditions de cristallisation. Ce motif de coordination est tel que chaque ion ferrique est hexacoordiné.⁵¹ Lors de la réduction des deux ions ferriques en ions ferreux via les électrons provenant du NADH, il y a un changement de conformation du glutamate 243 qui induit un changement de mode de coordination. En effet, de monodentate il devient bidentate avec un des atomes d'oxygène venant ponter les deux ions ferreux, et déplaçant la molécule d'eau pontante qui devient ainsi monodentate. Suite à ces changements dans la sphère de coordination des deux atomes de fer, ceux-ci deviennent pentacoordinés (Figure I-9).^{42c,52}

La première étape du cycle catalytique de MMOH commence dès lors que celle-ci se trouve dans la forme réduite avec deux ions Fe^{II} pentacoordinés capables de réagir avec une molécule de dioxygène (MMOH_{red} sur le Schéma I-12).^{47a}

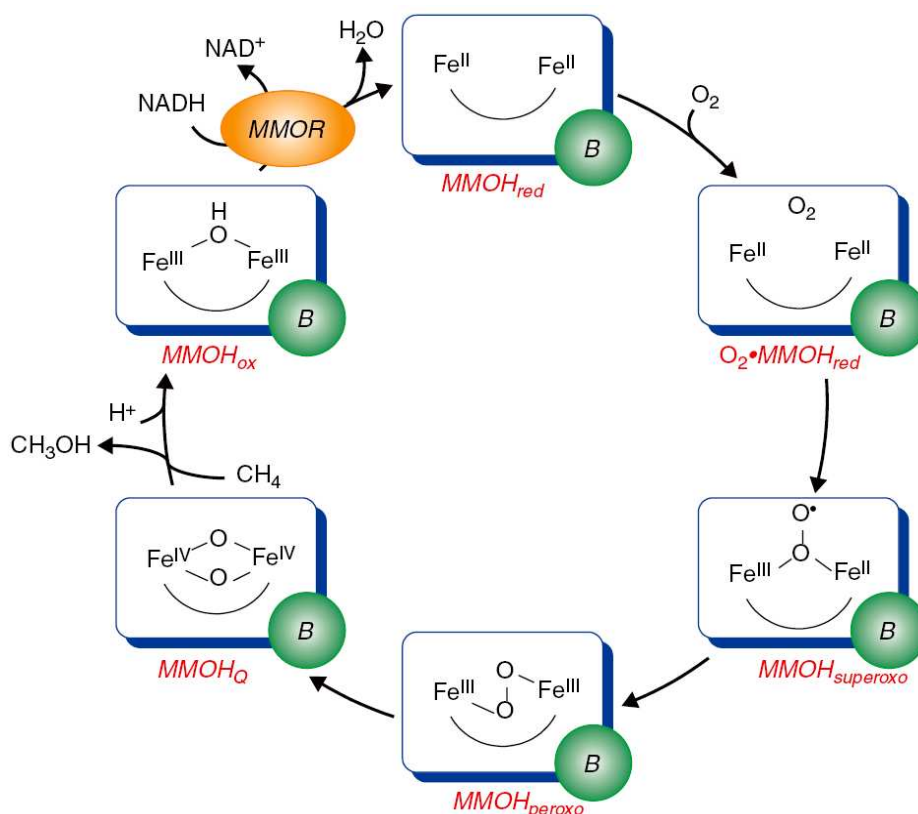


Schéma I-12. Cycle catalytique de la méthane monooxygénase soluble.^{47a}

La première espèce décelable par spectroscopie Mössbauer est une entité bis-fer(III)-peroxo ($\text{MMO}_{\text{peroxo}}$ sur le Schéma I-12). Toutefois, des études cinétique et théorique tendent à montrer qu'il se formerait antérieurement un autre intermédiaire de type fer(III)-superoxo ($\text{MMOH}_{\text{superoxo}}$ sur le Schéma I-12) parfois désigné sous le terme de composé O.⁵³ Ce composé évolue rapidement pour donner l'intermédiaire $\text{MMOH}_{\text{peroxo}}$; le mode de coordination du peroxyde entre les deux ions Fe^{III} est encore incertain même si des études suggèrent un intermédiaire de type bis- $\text{Fe}^{\text{III}}-(\mu-1,2\text{-peroxo})$.⁵⁴ Celui-ci se réarrange spontanément – par rupture homolytique ou hétérolytique de la liaison O-O – en une entité appelée composé Q (MMOH_{Q} sur le Schéma I-12) contenant deux ions ferriyle pontés par deux atomes d'oxygène formant le motif $\text{Fe}^{\text{IV}}_2(\mu\text{-O})_2$, nommé “cœur de diamant”.^{42c,47} Des études en spectroscopie Mössbauer et EXAFS, ainsi que l'élaboration de complexes bio-inspirés ont étayé l'intervention d'une telle espèce dans le cycle catalytique de MMOH, espèce reconnue comme étant directement responsable de l'oxydation du méthane en méthanol.^{55,56} Ceci dit, le mécanisme exact par lequel cette espèce introduit un atome d'oxygène au sein d'une liaison C-H est sujet à de nombreuses controverses donnant lieu à la proposition de mécanismes divers et variés sans qu'aucun d'eux ne soit clairement privilégié (Schéma I-13).^{47b}

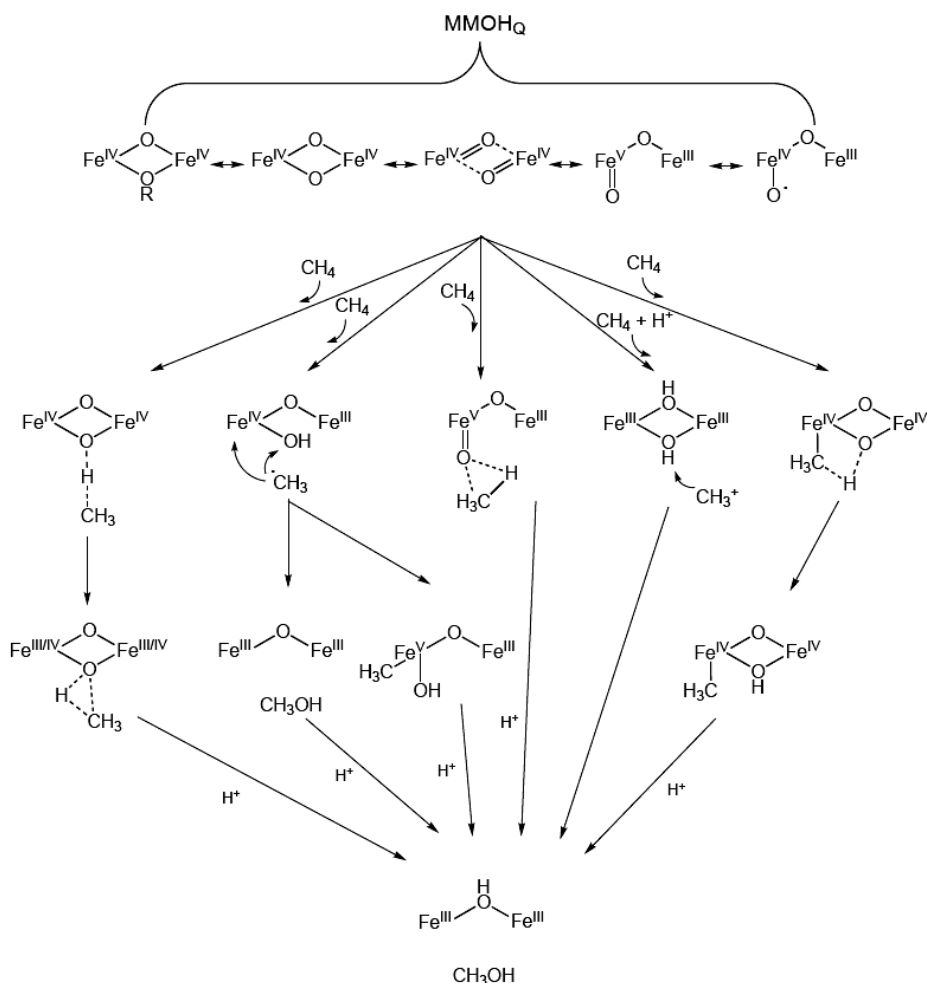


Schéma I-13. Ensemble des différents mécanismes proposés pour l'hydroxylation du méthane en méthanol par le composé Q.^{47b}

La protonation subséquente de l'autre atome d'oxygène induit la libération d'une molécule d'eau donnant l'intermédiaire de départ avec le centre bis- Fe^{III} . La réduction de ce dernier aboutit à l'intermédiaire MMO_{red} contenant un centre bis- Fe^{II} ; en conséquence, un nouveau cycle catalytique peut avoir lieu.

Au même titre que le cytochrome P450 et la naphthalène dioxygénase, la méthane monooxygénase soluble (contrairement à la méthane monooxygénase membranaire) peut catalyser l'oxydation – en plus du méthane – d'une large gamme de substrats tels que les hydrocarbures saturés, insaturés, linéaires, branchés pouvant aller jusqu'à huit atomes de carbone, ainsi que les hydrocarbures cycliques, aromatiques et halogénés, laissant penser à une utilisation de cette enzyme comme biocatalyseur.⁵⁷

III- Conclusion

Nous avons vu que les oxygénases à fer utilisent différents sites actifs pour l'activation de l'oxygène moléculaire : cofacteur de type porphyrine (centre de fer héminique), centre mononucléaire de fer non héminique et centre dinucléaire de fer non héminique.^{1,13,42c} Malgré cette variété structurale, l'activation du dioxygène et l'oxydation subséquente des substrats par les différentes oxygénases à fer (et à d'autres métaux) passent par le même type d'intermédiaire réactionnel, à savoir une espèce fer-oxo à haut degré d'oxydation (Schéma I-14).⁵⁸

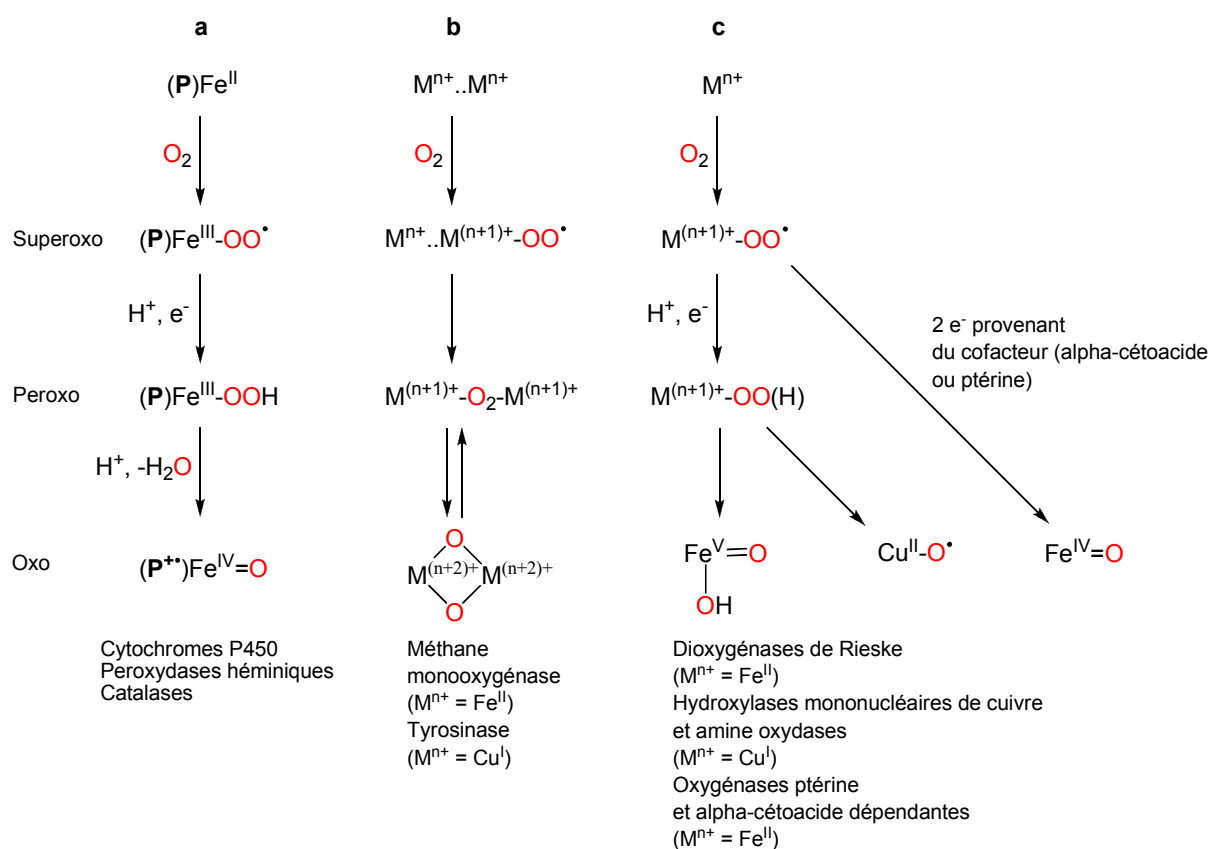


Schéma I-14. Comparaison des mécanismes d'activation du dioxygène par les métalloenzymes à centre métallique héminique (**a**), à centre métallique dinucléaire non héminique (**b**) et à centre métallique mononucléaire non héminique (**c**). e^- = électron, M = métal, P = porphyrine.⁵⁸

Cette chimie centrée sur le métal favorise des oxydations sélectives en ne produisant pas d'espèces radicalaires.^{13,58} Il n'en reste pas moins que les mécanismes d'oxydation se déroulant au sein de ces enzymes ne sont pas encore complètement compris, de même pour leur stéréosélectivité, et plus particulièrement leur énantiosélectivité. C'est pourquoi de

nombreux complexes de fer héminique et non héminique, modèles des sites actifs des oxygénases, ont été synthétisés dans le but de comprendre les relations existantes entre la structure de ces centres actifs, dont le motif de coordination, et leurs caractéristiques spectroscopiques et fonctionnelles, mais aussi de mettre en lumière le mécanisme de transfert énantiosélectif d'atomes d'oxygène sur les substrats. Outre cet aspect de recherche fondamentale, la conception de tels complexes selon une approche bio-inspirée a pour but de mettre au point de nouveaux catalyseurs d'oxydation répondant aux critères de la "chimie verte".

B. Catalyse homogène et chimie bio-inspirée

Comme nous l'avons vu dans l'introduction générale, la préparation efficace de composés énantion purs est, actuellement, plus que jamais indispensable pour la fabrication de médicaments, de produits agroalimentaires, mais aussi dans les domaines de la parfumerie et de la cosmétique. Une des stratégies employées pour l'obtention de molécules énantion pures est la catalyse asymétrique faisant intervenir des complexes métalliques optiquement actifs. Néanmoins, le coût et la toxicité des métaux et des oxydants employés ont incité les chercheurs à concevoir d'autres types de complexes utilisant comme métal le fer, le cuivre ou le manganèse, et comme oxydants le peroxyde d'hydrogène ou les alkylhydroperoxydes. Cette conception s'appuie sur les découvertes effectuées concernant la structure des sites actifs des oxygénases à fer. Il s'agit donc d'une approche bio-inspirée.

I- L'oxydation énantiosélective d'alcènes

I-1. Avec des complexes mononucléaires de fer non héminique

Nous avons vu précédemment (Partie A) que les oxygénases à fer ont la faculté de catalyser des réactions avec un excès énantion mérique de 100%. Nous avons illustré nos propos avec, entre autres, les dioxygénases de Rieske qui promeuvent la *cis*-dihydroxylation énantion sélective de liaisons C=C aromatiques. Il s'avère donc intéressant et judicieux d'utiliser ces dioxygénases comme biocatalyseurs. Cependant, comme pour toutes les enzymes, elles ne sont utilisables que pour une gamme restreinte de substrats, ce qui limite leurs applications.⁵⁹

En conséquence, pour palier cette limitation, divers complexes de fer, dont la structure est inspirée des centres actifs des métalloenzymes, ont été conçus dans le but d'effectuer la

catalyse d'oxydation d'une grande variété de composés tout en conservant les propriétés d'énantiosélectivité des enzymes. Parmi ces catalyseurs bio-inspirés figurent des complexes de fer avec le motif chiral *trans*-1,2-diaminocyclohexane pour le ligand, apportant ainsi des complexes optiquement actifs (Figure I-10).⁶⁰

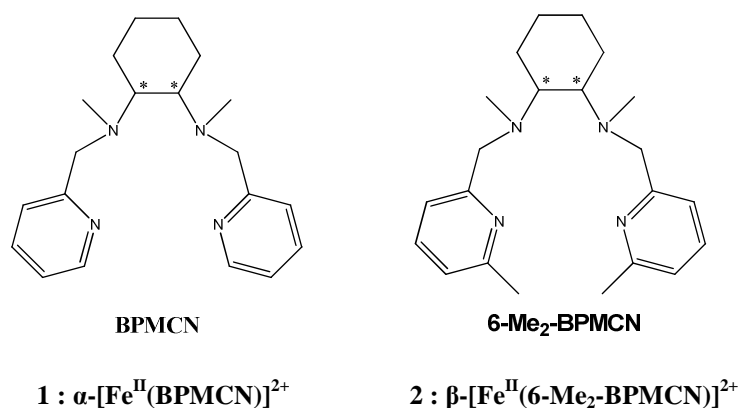


Figure I-10. Ligands chiraux et leurs complexes de fer correspondants catalysant la *cis*-dihydroxylation énantiosélective d'alcènes.⁶⁰

La conception de ces ligands s'est appuyée sur des études montrant l'importance du motif cyclohexanediamine pour l'induction chirale dans des catalyses d'oxydations utilisant des métaux.⁶¹ Le complexe [Fe^{II}(BPMCN)(OTf)₂] (**1**, OTf = trifluorométhanesulfonate) s'est révélé apte à promouvoir l'oxydation énantiosélective du *trans*-2-heptène avec cependant des excès énantiomériques très modestes (29% pour le *cis*-diol et 12% pour l'époxyde). L'utilisation du complexe [Fe^{II}(6-Me₂-BPMCN)(OTf)₂] (**2**) a donné des résultats plus prometteurs avec un excès énantiomérique atteignant 79% pour la *cis*-dihydroxylation énantiosélective du même substrat et un mélange racémique pour l'époxydation.

La structure cristallographique de ces deux complexes a montré l'existence d'une différence de l'arrangement spatial du ligand autour du centre métallique selon le complexe, pouvant ainsi apporter une explication quant à la différence d'induction asymétrique apportée par les deux complexes (Figure I-11).⁶⁰

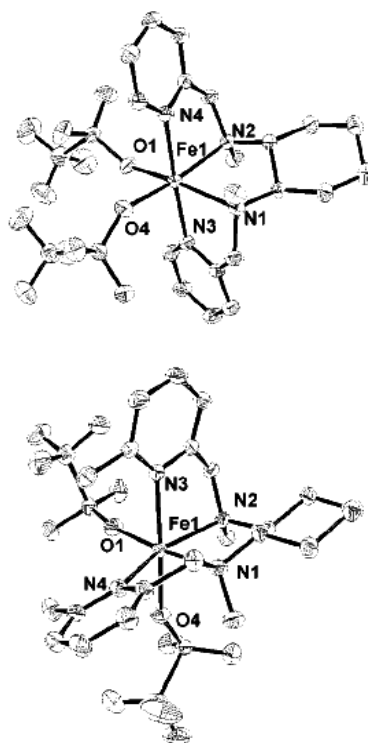


Figure I-11. Structure cristallographique des complexes **1** et **2**.⁶⁰

Pour le complexe **1R,2R-1**, le ligand adopte une topologie *cis-α* où les deux groupements pyridines sont *trans* l'un par rapport à l'autre et les deux groupements *N*-méthyle orientés en *anti*. Quant au complexe **1S,2S-2**, le ligand se trouve dans une topologie *cis-β* avec les deux noyaux pyridine positionnés en *cis* l'un par rapport à l'autre et les deux groupements *N*-méthyle dans une conformation *syn* (Figure I-12).^{62,63}

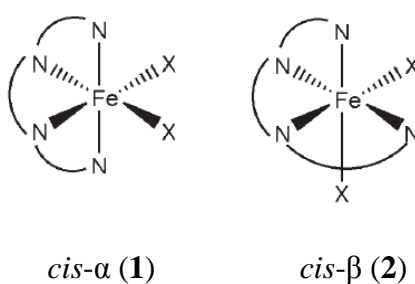


Figure I-12. Différences de topologie du ligand pour les complexes **1** et **2**.⁶³

Toutefois, aucune donnée n'a pu permettre de savoir si ces conformations se maintiennent lors du passage à l'espèce fer(III)-peroxo, celle-ci étant reconnue comme un intermédiaire-clé dans la catalyse de *cis*-dihydroxylation. Ces études ont établi un parallèle entre le catalyseur **1S,2S-2** et les espèces à base d'osmium pour la catalyse de *cis*-dihydroxylation. En effet, comme pour ces dernières, les substrats avec une double liaison

trans-disubstituée sont ceux avec lesquels les meilleurs excès énantiomériques sont obtenus (79% pour le *trans*-2-heptène). Cette similarité dans l'induction asymétrique en fonction des aspects stériques des substrats incite à considérer que les espèces actives responsables de la dihydroxylation sont semblables pour les catalyseurs d'osmium et ceux de fer. Dans la chimie du fer, l'analogue du (*cis*-dioxo)osmium(VIII) a été subodoré comme étant soit une espèce $\text{Fe}^{\text{III}}-(\eta^2\text{-OOH})$, soit une espèce à haut degré d'oxydation comme le *cis*-fer(V)-oxo(hydroxo).

Par la suite, Que et coll. ont élaboré d'autres complexes avec des ligands chiraux en s'inspirant du complexe synthétisé par White et coll.⁶⁴ En effet, ces complexes possèdent une bipyrrrolidine au niveau de la structure des ligands avec deux carbones asymétriques (Figure I-13).⁶⁵

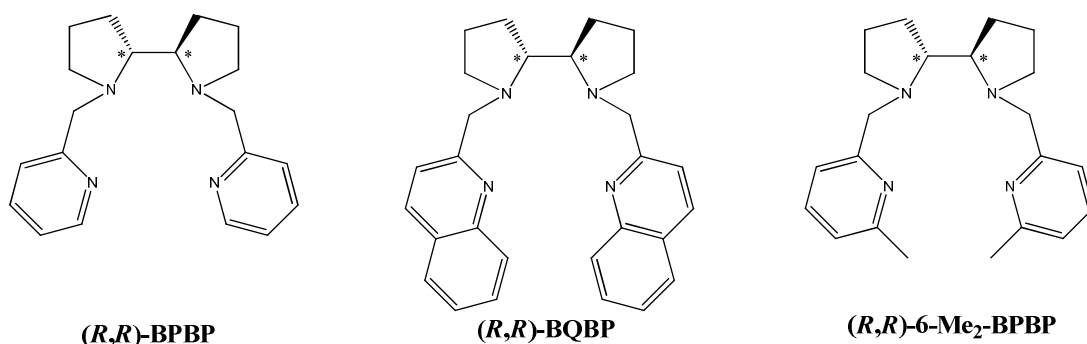
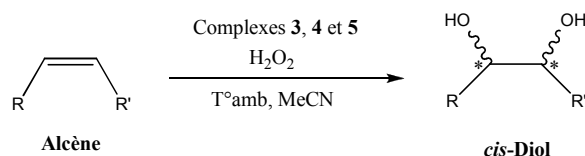


Figure I-13. Ligands tétra-azotés chiraux possédant le motif bipyrrrolidine.⁶⁵

Les trois complexes $[\text{Fe}^{\text{II}}((R,R)\text{-BPBP})(\text{OTf})_2]$ (**3**), $[\text{Fe}^{\text{II}}((R,R)\text{-BQBP})(\text{OTf})(\text{EtOH})]\text{OTf}$ (**4**) et $[\text{Fe}^{\text{II}}((R,R)\text{-6-Me}_2\text{-BPBP})(\text{OTf})_2]$ (**5**) ont été testés en catalyse d'oxydation d'alcènes (Schéma I-15).



| Cat | Alcène | Diol/Epox | ee (%) |
|----------|----------------------------------|-----------|--------|
| 3 | <i>trans</i> -2-Heptène | 1/4,6 | 38 |
| 4 | <i>trans</i> -2-Heptène | 4/1 | 78 |
| 4 | Acrylate de <i>tert</i> -butyle | > 27/1 | 23 |
| 5 | <i>trans</i> -2-Heptène | 26/1 | 97 |
| 5 | <i>trans</i> -4-Octène | 13/1 | 96 |
| 5 | Acrylate de <i>tert</i> -butyle | > 40/1 | 68 |
| 5 | <i>trans</i> -Crotonate d'éthyle | > 75/1 | 78 |

Conditions : H₂O₂ (70 mM) dans MeCN est délivré par pousse-seringue sur 20 min à une solution de cat (0,7 mM) et d'alcène (0,35 mM) dans MeCN à l'air pour **3** et **4**, et sous Ar pour **5**

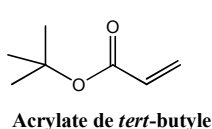
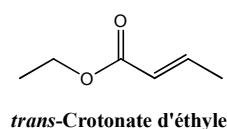
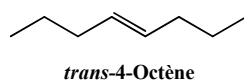
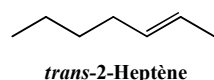


Schéma I-15. Catalyse asymétrique de *cis*-dihydroxylation d'alcènes effectuée par les complexes **3**, **4** et **5**.

Les complexes **4** et **5** se sont avérés être chimiosélectifs en faveur de la *cis*-dihydroxylation avec des rapports diol/époxyde supérieurs à 20 comme en témoigne l'oxydation de l'acrylate de *tert*-butyle avec le complexe **4** où une valeur supérieure à 27 est obtenue. Cette sélectivité en faveur de la *cis*-dihydroxylation est plus prononcée avec le complexe **5** où une valeur du rapport diol/époxyde supérieure à 75 est atteinte, et ce, pour l'oxydation du *trans*-crotonate d'éthyle. Ces résultats sont similaires à ceux obtenus avec les complexes **1** et **2** – dont les ligands ont le motif *trans*-1,2-diaminocyclohexane – et mettent ainsi en avant le rôle des groupements méthyle, introduits en position 6 sur les deux pyridines, dans la chimiosélectivité de l'oxydation de doubles liaisons C=C.

Du point de vue de l'énantiosélectivité des réactions de *cis*-dihydroxylation, le complexe **3** apporte de modestes excès énantiomériques (ee = 38% pour le *trans*-2-heptène) contrairement au complexe **4** où un excès énantiomérique de 78% est atteint pour le même substrat. Mais c'est avec le complexe **5** que les meilleures énantiosélectivités sont obtenues (ee = 96% pour le *trans*-4-octène et 97% pour le *trans*-2-heptène). Ainsi, le complexe **5** catalyse la *cis*-dihydroxylation de doubles liaisons C=C avec une meilleure énantiosélectivité que celle induite par le complexe **2** pour la même réaction. Cette différence peut s'expliquer en comparant les structures des ligands de ces deux complexes. En effet, le squelette du ligand **6-Me₂-BPBP** est plus rigide que le celui du ligand **6-Me₂-BPMC** étant donné la

présence des deux pyrrolidines ; en outre, celui-ci adopte une topologie *cis-α* contrairement au ligand **6-Me₂-BPMC**N qui s'organise autour du fer selon une topologie *cis-β*.⁶⁵

I-2. Avec des complexes dinucléaires de fer non héminique

La formidable capacité de la méthane monooxygénase à catalyser sélectivement l'oxydation du méthane en méthanol, à température et pression ambiantes, a incité de nombreux chercheurs à concevoir des catalyseurs dinucléaires de fer non héminique dont la structure est inspirée du site active de cette enzyme. Ainsi, plusieurs complexes de ce type ayant la propriété d'oxyder des alcanes, des alcènes et des thioéthers ont vu le jour au début des années 1990, et la recherche en ce domaine est toujours très active.⁶⁶

Les travaux de Stack et coll. ont montré une bonne activité pour le complexe $[\text{Fe}_2\text{O}(\text{phen})_4(\text{H}_2\text{O})_2](\text{ClO}_4)_4$ en catalyse d'époxydation d'oléfines terminales avec l'acide peracétique comme oxydant.⁶⁷ Ces travaux ont dès lors fortement encouragé Ménage et coll. à utiliser un catalyseur dinucléaire chiral afin d'effectuer la catalyse d'époxydation énantiosélective d'alcènes. Le catalyseur en question, le $[\text{Fe}_2\text{O}(\text{bisPB})_4(\text{H}_2\text{O})_2](\text{ClO}_4)_4$, est un complexe dinucléaire de Fe^{III} non héminique dont la chiralité provient de deux groupements pinène accolés aux pyridines du ligand. Ce complexe a apporté de bons rendements et excès énantiomériques en époxydation de la *trans*-chalcone et du *trans*-β-cinnamate de méthyle (Schéma I-16).⁶⁸

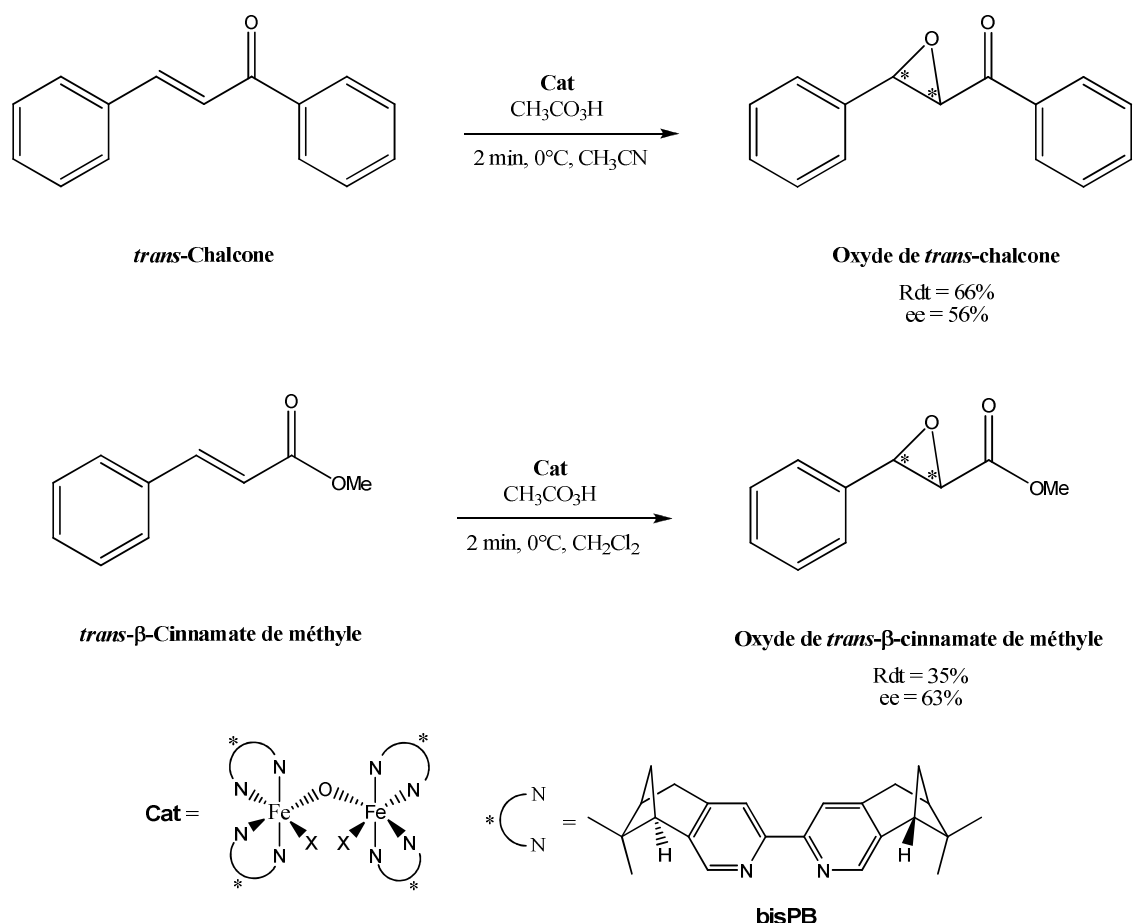


Schéma I-16. Catalyse d'époxydation énantiosélective de la *trans*-chalcone et du *trans*-β-cinnamate de méthyle utilisant le complexe [Fe₂O(bisPB)₄(H₂O)₂](ClO₄)₄.⁶⁸

De plus, il y a une totale rétention de configuration lors de l'oxydation des *trans*- et *cis*-β-méthylstyrène, ou encore du stilbène. Par conséquent, la stéréosélectivité apportée par ce complexe laisse supputer un mécanisme d'oxydation centrée sur le métal sans intervention de radicaux libres ; des études de marquages isotopiques d'atomes d'oxygène de l'eau et du dioxygène vont dans le sens de cette hypothèse.

En 2008, Kwong et coll. ont élaboré un complexe dinucléaire de fer, le complexe [Fe₂O(L)Cl₄], où L est un ligand sexipyridine chiral.⁶⁹ L'efficacité catalytique de ce complexe a été testée en époxydation d'alcènes avec le peroxyde d'hydrogène comme oxydant, en présence d'acide acétique (AcOH). Ainsi, en trois minutes, à température ambiante, l'oxydation du styrène catalysée par [Fe₂O(L)Cl₄] a apporté 76% de conversion vis-à-vis de l'époxyde correspondant. A 0°C, l'efficacité catalytique s'est accrue avec 100% de conversion en trois minutes pour l'époxydation du styrène. Ainsi, le complexe [Fe₂O(L)Cl₄] a

été utilisé en catalyse énantiosélective d'époxydation d'alcènes selon ces conditions (Schéma I-17).⁶⁹

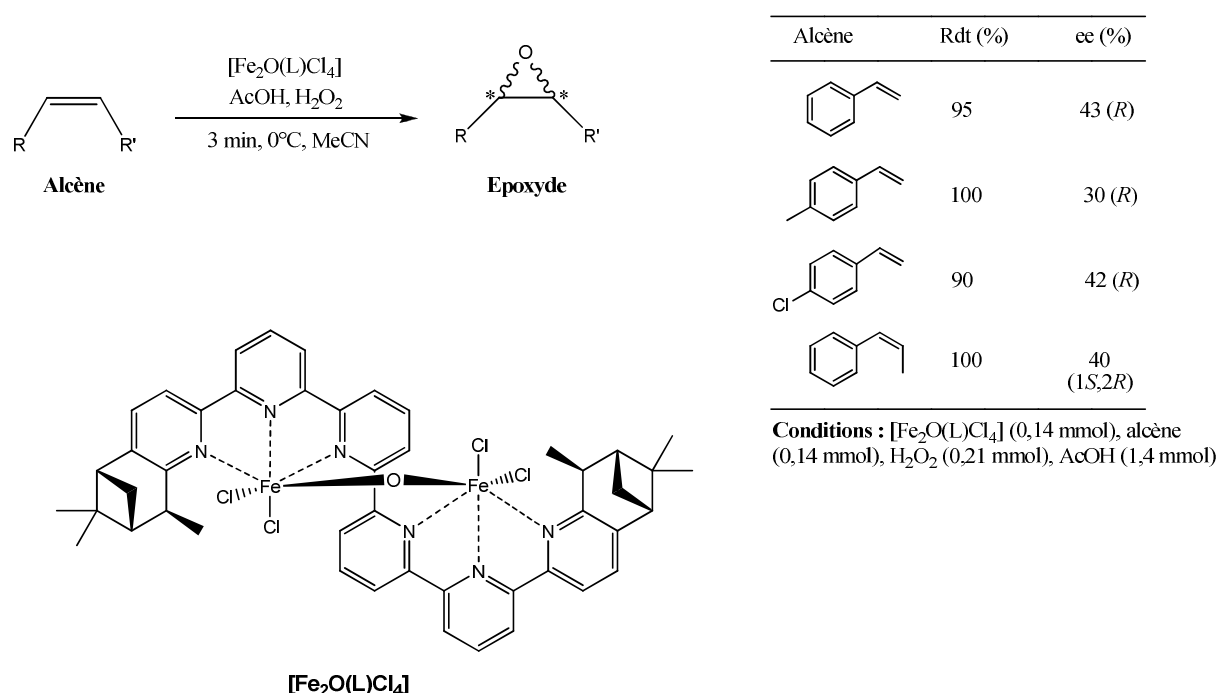


Schéma I-17. Epoxydation énantiosélective d'alcènes catalysée par le complexe [Fe₂O(L)Cl₄].

Bien que les valeurs en excès énantiomériques obtenues lors de la catalyse énantiosélective d'époxydation d'alcènes ne soient pas très élevées (ee = 43% pour le styrène, Schéma I-17), ils sont assez significatifs pour montrer qu'une catalyse asymétrique d'oxydation est possible en utilisant un complexe dinucléaire de fer non héminique avec un oxydant non nocif comme le peroxyde d'hydrogène.

Il est à noter que lors des tests catalytiques, de l'acide acétique est ajouté. La présence de cet additif dans la catalyse d'époxydation réalisée par les complexes mononucléaires de fer non héminique s'explique à travers les travaux de Jacobsen et coll. En effet, ils ont montré que cet acide induit un gain d'activité et de chimiosélectivité en faveur de l'époxydation lors de la catalyse d'oxydation d'alcènes avec le complexe [Fe^{II}(BPMEN)(NCMe)₂](SbF₆)₂.⁷⁰ En 2007, Que et coll. ont proposé un mécanisme expliquant les effets de l'acide acétique (Schéma I-18).⁷¹

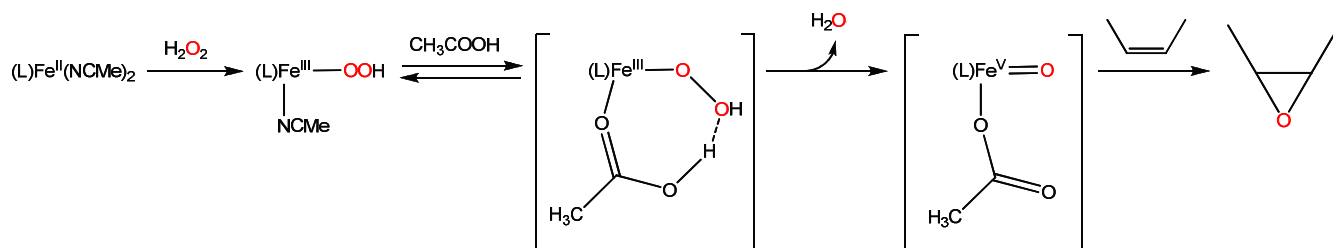


Schéma I-18. Mécanisme proposé pour l'époxydation d'alcènes catalysée par des complexes de fer non hémunique en présence d'acide acétique.

L'acide acétique se lie sur l'intermédiaire $\text{Fe}^{\text{III}}\text{-OOH}$ au lieu d'une molécule d'eau. L'acide acétique va faciliter le départ d'une molécule d'eau par protonation de l'oxygène terminal du ligand hydroperoxo, et ainsi favoriser la rupture hétérolytique de la liaison O-O. L'espèce $\text{Fe}^{\text{V}}\text{=O}$ qui en résulte ne possède pas de ligand hydroxo et ne peut donc transférer qu'un seul atome d'oxygène sur la liaison $\text{C}=\text{C}$.

II- L'hydroxylation stéréosélective d'alcanes

II-1. Avec des complexes mononucléaires de fer non hémunique

L'oxydation des liaisons C-H aliphatiques représente un enjeu important en chimie du fait de l'inertie de ces liaisons.⁷² Diverses méthodes sont couramment utilisées en synthèse organique pour effectuer cette réaction, celles-ci faisant intervenir des oxydants organiques tels que les peroxydes, les dioxiranes et les peracides ; cependant, ces procédés sont stoechiométriques et font appel à des oxydants coûteux et polluants.⁷³

La découverte et l'étude d'enzymes à fer capables de catalyser cette oxydation par activation de l'oxygène moléculaire, comme le cytochrome P450 et la méthane monooxygénase, ont permis la mise en œuvre de procédés catalytiques à base de complexes de fer dont la structure est inspirée de celle des centres actifs de ces métalloenzymes, et ce, dans une double perspective. D'une part, la mise au point de nouveaux catalyseurs utilisant des oxydants peu chers et non nocifs comme le dioxygène ou le peroxyde d'hydrogène, d'autre part, la compréhension des mécanismes au niveau moléculaire des cycles catalytiques de ces oxygénases à fer.^{74,75}

Le premier complexe de fer non hémunique synthétisé capable de catalyser l'hydroxylation stéréosélective d'alcanes, en utilisant le peroxyde d'hydrogène comme oxydant, a été rapporté par Que et coll. en 1997. Ce complexe, le

$[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{TPA})(\text{NCMe})_2](\text{ClO}_4)_2$, produit majoritairement du cyclohexanol lors de la catalyse d'oxydation du cyclohexane (Figure I-14).⁷⁶

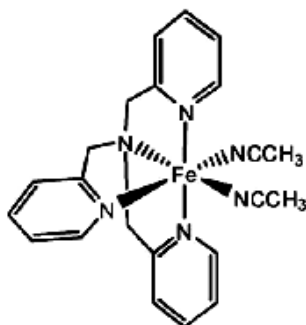


Figure I-14. Le complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{TPA})(\text{NCMe})_2](\text{ClO}_4)_2$.⁷⁶

L'hydroxylation des *cis*- et *trans*-1,2-diméthylcyclohexane se fait avec une rétention de configuration > 99% ; cette haute stéréosélectivité ajoutée à une production préférentielle d'alcool et à l'absence d'influence de l'oxygène moléculaire sur les résultats de la réaction, suggère fortement une chimie centrée sur le métal sans intervention de radicaux hydroxyle. Des études menées sur ce complexe par spectroscopie UV-visible, RPE et spectrométrie de masse ont été en faveur d'un intermédiaire de type $\text{Fe}^{\text{III}}\text{-OOH}$ comme espèce active lors du cycle catalytique.⁷⁶

Toutefois, des études ultérieures menées par Que et coll. sur le complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{BPMEN})(\text{NCMe})_2](\text{ClO}_4)_2$ ont montré que l'espèce active responsable de l'hydroxylation stéréospécifique du *cis*-diméthylcyclohexane est un fer-oxo à haut degré d'oxydation de type $\text{Fe}^{\text{V}}=\text{O}$ en réalisant des études de marquage isotopique avec du ^{18}O . Les atomes d'oxygène marqués sont soit celui de l'eau, soit ceux du peroxyde d'hydrogène. Ces études mettent en évidence un échange d'atomes d'oxygène entre ceux du peroxyde d'hydrogène et celui de l'eau pour cette réaction d'hydroxylation. (Schéma I-19).⁷⁷

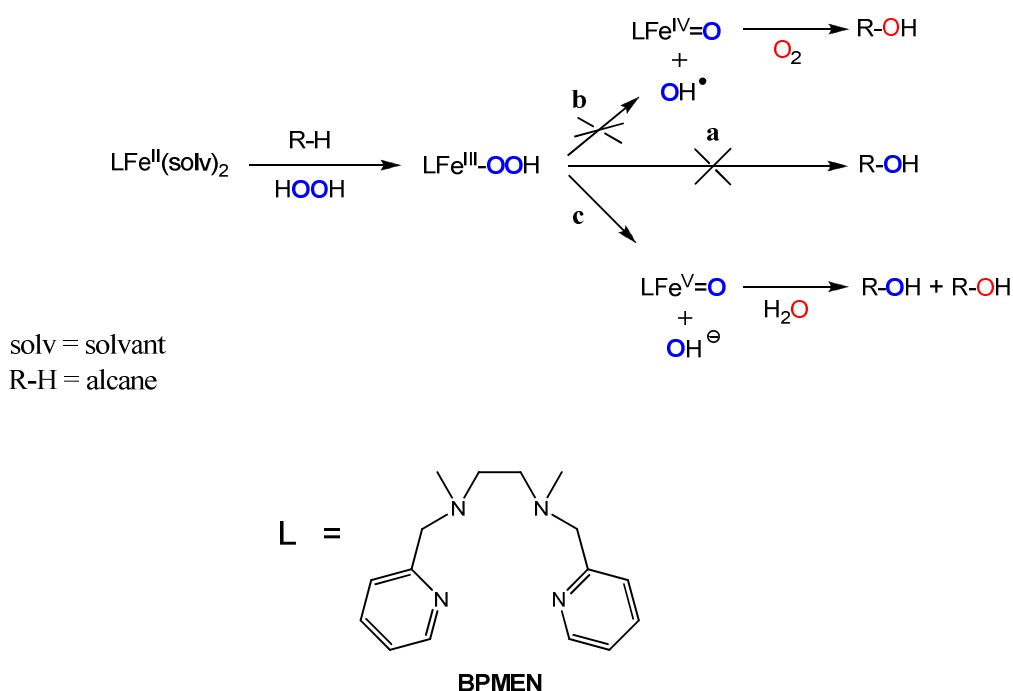


Schéma I-19. Expérience de marquage isotopique avec ^{18}O lors de l'hydroxylation d'un alcane R-H catalysée par $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{BPMEN})(\text{NCMe})_2](\text{ClO}_4)_2$.
 Les atomes d'oxygène marqués sont colorés en bleu.⁷⁷

A partir de l'espèce $\text{Fe}^{\text{III}}\text{-OOH}$, trois chemins réactionnels sont envisageables. En effet, l'hydroperoxyde peut attaquer directement la liaison C-H de l'alcane (**a**). Par ailleurs, la liaison O-O du peroxyde peut se rompre avant la réaction avec le substrat, soit de façon homolytique (**b**) pour aboutir à une espèce $\text{Fe}^{\text{IV}}=\text{O}$ et un radical hydroxyle, soit de manière hétérolytique donnant une espèce $\text{Fe}^{\text{V}}=\text{O}$ avec libération d'un ion hydroxyde. La voie **a** peut être exclue étant donné qu'un intermédiaire $\text{Fe}^{\text{III}}\text{-OOH}$ n'est pas capable d'échanger ses atomes d'oxygène avec ceux du solvant. La production préférentielle d'alcool par rapport à la cétone lors de l'oxydation du cyclohexane (rapport alcool/cétone = 8) et la stéréosélectivité observée pour l'hydroxylation du *cis*-1,2-diméthylcyclohexane ne sont pas en accord avec la participation d'un radical hydroxyle. Par conséquent, il ne reste plus que la voie **c** avec l'intervention d'un intermédiaire $\text{Fe}^{\text{V}}=\text{O}$ directement impliqué dans l'insertion d'un atome d'oxygène dans la liaison C-H d'un alcane. Cette supposition est confortée par les travaux de Meunier et coll. qui ont révélé la propriété d'un métal-oxo hémunique à haut degré d'oxydation d'échanger son atome d'oxygène avec celui de l'eau suivant une tautomérie oxo-hydroxo.⁷⁸

Dès lors, d'autres travaux ont fait suite concernant la participation d'une espèce de type $\text{Fe}^{\text{V}}(\text{O})(\text{OH})$ lors de réactions d'hydroxylation de liaisons C-H catalysées par des

complexes de fer non héminique. Ces études ont fait appel à diverses méthodes spectroscopiques à basse température, ainsi qu'au marquage isotopique d'atomes d'oxygène avec ^{18}O à température ambiante.⁷⁹ Ainsi, un mécanisme réactionnel a pris forme pour les réactions d'oxydation catalysées par les centres mononucléaires de fer non héminique (Schéma I-20).⁵⁸

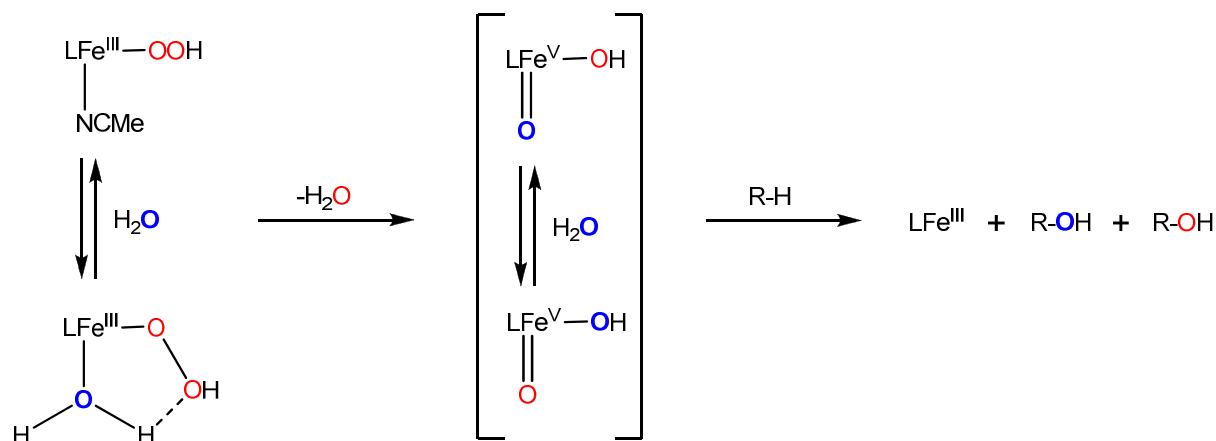


Schéma I-20. Mécanisme proposé pour la catalyse d'oxydation d'alcanes par des complexes mononucléaires de fer non héminique mettant en évidence l'équilibre tautomérique au niveau de l'espèce $\text{Fe}^{\text{V}}(\text{O})(\text{OH})$. L'atome d'oxygène ^{18}O de l'eau est représenté en bleu.⁵⁸

En 2007, White et coll. ont élaboré un nouveau complexe de fer non héminique, le $[\text{Fe}^{\text{II}}((S,S)\text{-BPBP})(\text{NCMe})_2](\text{SbF}_6)_2$, possédant un ligand rigide et volumineux via la présence de deux pyrrolidines (Figure I-15).⁶⁴

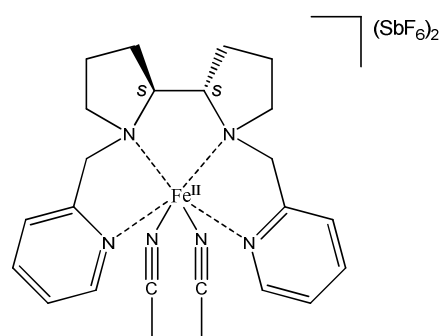
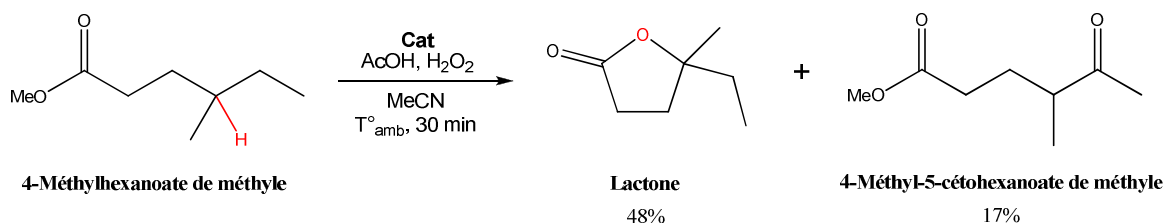


Figure I-15. Le catalyseur $[\text{Fe}^{\text{II}}((S,S)\text{-BPBP})(\text{NCMe})_2](\text{SbF}_6)_2$.⁶⁴

Ce complexe a été utilisé pour catalyser l'oxydation de liaisons C-H aliphatiques, avec le peroxyde d'hydrogène comme oxydant, sur une large gamme de substrats avec une sélectivité prédictive en fonction des environnements stérique et électronique de la liaison.

Des réactions d'oxydation effectuées sur des esters méthyliques illustrent bien comment les effets stérique et électronique influent sur la régio- et chimiosélectivité de l'hydroxylation catalysé par ce système (Schéma I-21).⁶⁴

Effets électroniques



Effets stériques

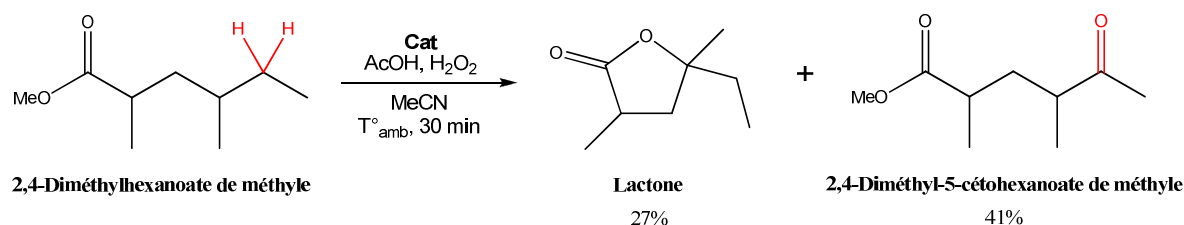


Schéma I-21. Influence des effets stérique et électronique sur la sélectivité de l'oxydation de liaisons C-H catalysée par $[\text{Fe}^{\text{II}}((S,S)\text{-BPBP})(\text{NCMe})_2](\text{SbF}_6)_2$.

Pour ce qui est du 4-méthylhexanoate de méthyle, l'oxydation va se faire de préférence sur la liaison C-H tertiaire (en rouge sur le Schéma I-21) pour donner un groupement hydroxyle qui va former une lactone par attaque nucléophile sur le carbonyle de la fonction ester. En effet, ce site est le plus riche en électrons via l'effet inductif donneur du méthyle ; cette sélectivité étant prévisible du fait de l'électrophilie du complexe. Par contre, si un groupement méthyle est ajouté en α de la fonction ester, la sélectivité est inversée et la lactone devient le produit minoritaire. Les liaisons C-H du méthylène les moins encombrées et les plus riches en électrons (en rouge sur le Schéma I-21) sont celles qui vont être oxydées préférentiellement. L'ajout d'acide acétique lors des tests catalytiques a été motivé par les effets bénéfiques qu'il apporte en catalyse d'époxydation d'alcènes (Partie B, Chapitre I).^{70,71}

Forts des résultats apportés par ce nouveau système catalytique, les auteurs l'ont testé sur des molécules organiques plus complexes, comme un analogue de l'acide tétrahydrogibbérannique (Schéma I-22).⁶⁴

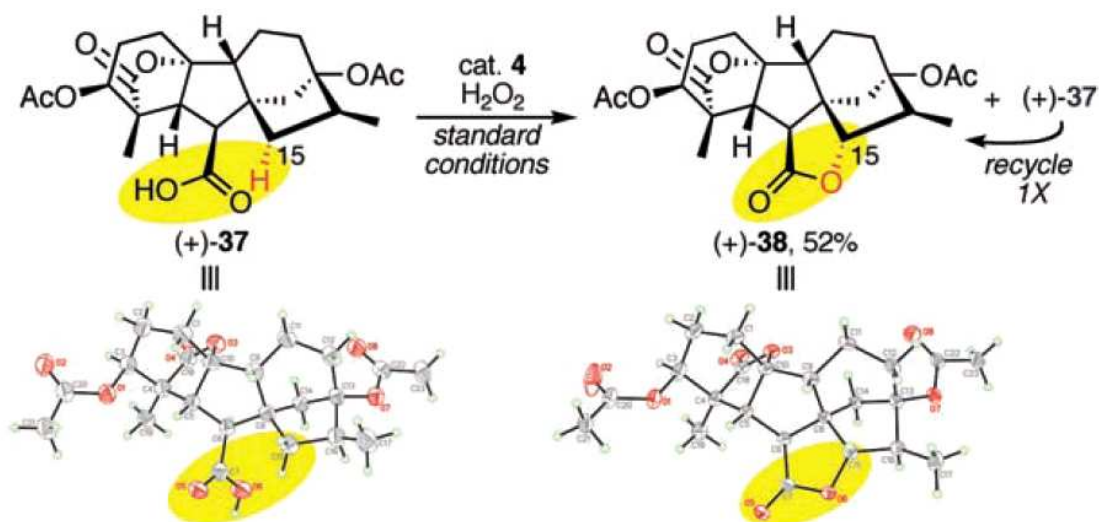


Schéma I-22. Hydroxylation dirigée par un groupement carboxylate catalysée par $[\text{Fe}^{\text{II}}((S,S)\text{-BPBP})(\text{NCMe})_2](\text{SbF}_6)_2$ d'un analogue de l'acide tétrahydrogibbérélique.⁶⁴

C'est la liaison C-H la plus proche du groupement carboxylate (en rouge sur le Schéma I-22) qui a été hydroxylée par effet dirigé dudit carboxylate en se coordonnant sur le fer du complexe, le résultat étant la formation d'une lactone comme l'attestent les structures cristallographiques des composés.

Il est toutefois surprenant que White et coll. ne mentionnent jamais l'énantiosélectivité des hydroxylations catalysées par le complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}((S,S)\text{-BPBP})(\text{NCMe})_2](\text{SbF}_6)_2$ alors que celui-ci possède un ligand ayant deux carbones asymétriques.

Plus récemment, Costas et coll. ont mis au point un autre catalyseur à base de fer, le complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}((S,S,R)\text{-MCP})](\text{OTf})_2$, possédant un ligand volumineux et robuste du fait de la présence de motifs pinène accolés aux noyaux pyridine (Figure I-16).⁸⁰

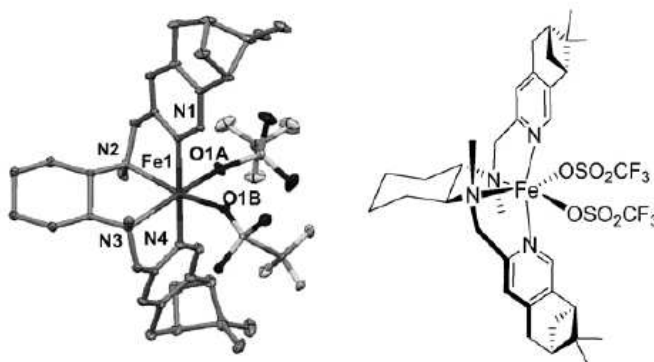
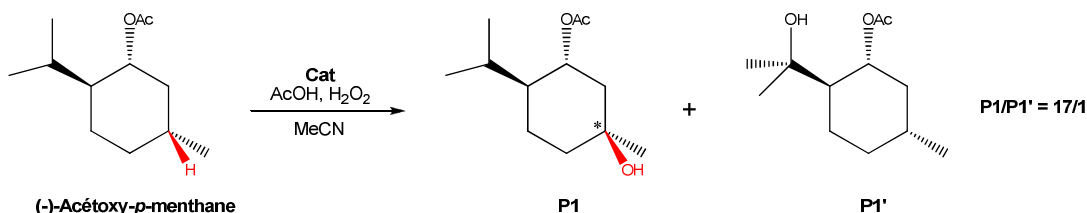


Figure I-16. Structure du complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}((S,S,R)\text{-MCP})(\text{OTf})_2]$.⁸⁰

Ce complexe s'est montré apte à effectuer la catalyse sélective d'hydroxylation d'alcane en utilisant le peroxyde d'hydrogène en tant qu'oxydant et l'acide acétique comme additif, à l'instar du complexe réalisé par White et coll., comme en témoignent l'oxydation du (-)-acétoxy-*p*-menthane et celle du 8-bromo-2,6-diméthyl-octane (Schéma I-23).

Effets stériques



Effets électroniques

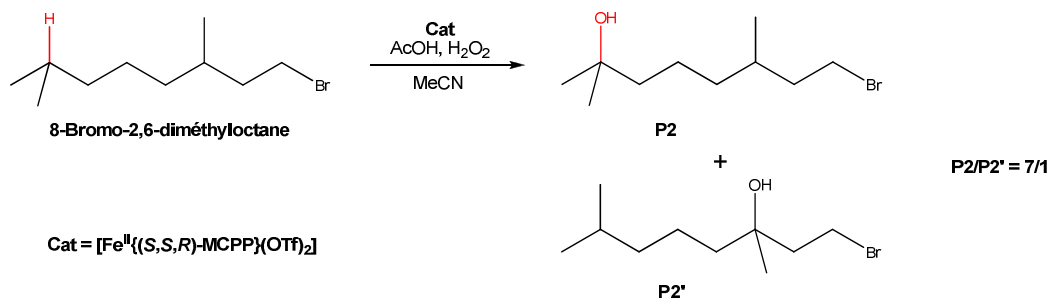


Schéma I-23. Hydroxylations régio- et stéréospécifiques de liaisons C-H tertiaires catalysées par [Fe^{II}((*S,S,R*)-MCP)(OTf)₂] (les liaisons en rouge indiquent celles qui sont hydroxylées préférentiellement).

Des tests en catalyse d'oxydation du (-)-acétoxy-*p*-menthane et la spectrométrie de masse ont mis en exergue la grande stabilité du complexe de Costas et coll. Cette stabilité peut s'expliquer par l'architecture du ligand qui permet l'emplacement du fer au sein d'un environnement hydrophobe et robuste du fait de la présence des groupements méthyles provenant des pinènes ; un tel environnement pour le site à fer éviterait l'inactivation du catalyseur par formation de dimères à pont oxo et autres oligomères.⁸¹

En comparant le complexe [Fe^{II}((*S,S,R*)-MCP)(OTf)₂] avec les autres rencontrés jusqu'ici en catalyse d'hydroxylation du *cis*-diméthylcyclohexane, suivant les mêmes conditions, il appert que celui-ci est le plus efficace en terme de rendement avec une rétention de configuration > 99% (Schéma I-24).⁸⁰

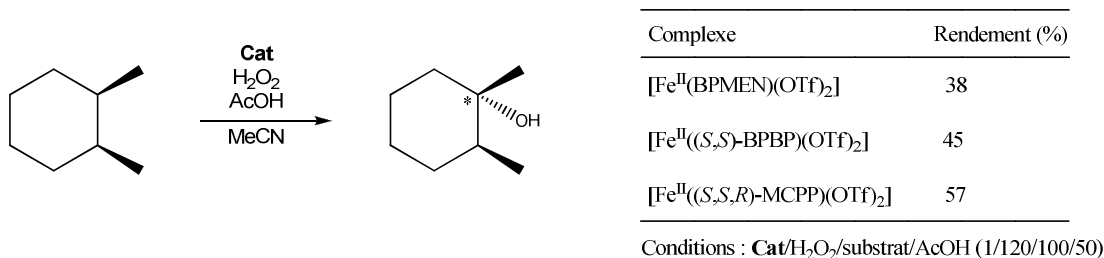


Schéma I-24. Hydroxylation stéréospécifique du *cis*-diméthylcyclohexane catalysée par différents complexes de fer.

Néanmoins, comme dans le cas de White et coll.,⁶⁴ nous pouvons regretter l'absence de considération pour la catalyse énantiosélective d'alcane, sachant que le complexe utilisé possède un ligand chiral.

II-2. Avec des complexes dinucléaires de fer non héminique

Pour ce qui est des complexes dinucléaires de fer non héminique, un seul système a été testé en catalyse stéréosélective, et notamment énantiosélective, d'hydroxylation d'alcane.

Ce système catalytique a été élaboré par Ménage et coll. en 2000. Il consiste en un complexe diferrique μ -oxo non héminique possédant un ligand chiral qui est le 4,5-(-)pinène-2,2'-bipyridine (PB) (Schéma I-25).⁸²

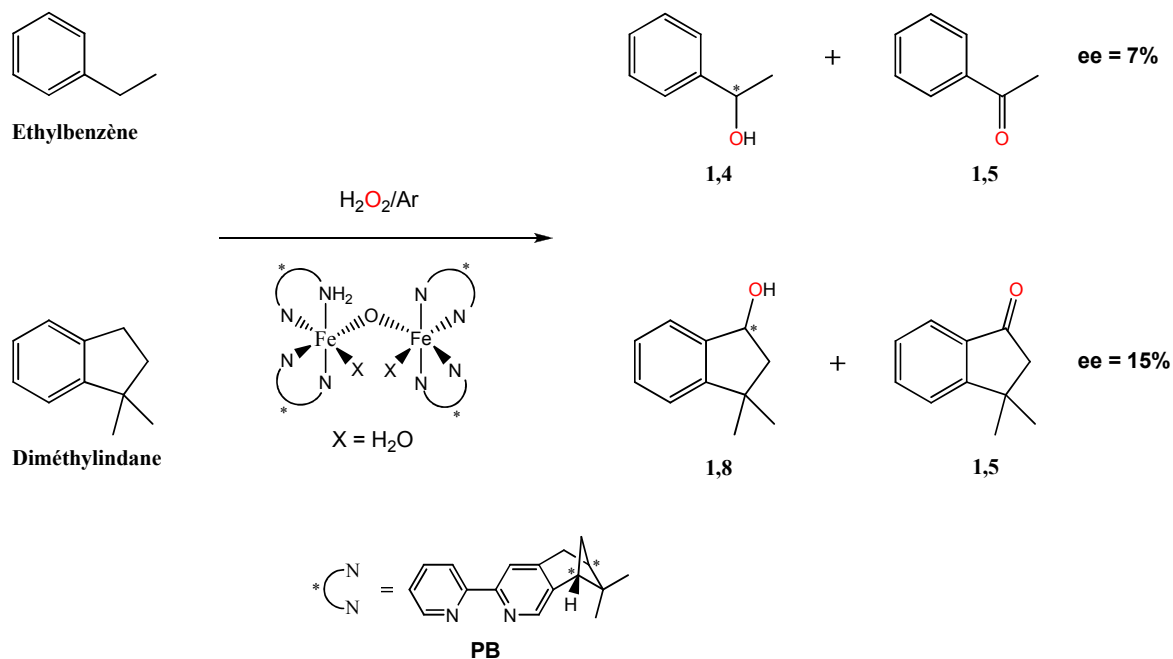


Schéma I-25. Catalyse d'hydroxylation énantiosélective d'alcane avec le complexe [Fe₂O(PB)₄(H₂O)₂](ClO₄)₄.

Les expériences de catalyse ont été effectuées dans de l'acétonitrile dégazé avec de l'argon, il n'en reste pas moins qu'il y a formation de cétone. Ce phénomène s'explique par la dismutation d'une partie du peroxyde d'hydrogène qui produit de l'oxygène moléculaire.

Ceci dit, la stéréosélectivité apportée par le complexe $[\text{Fe}_2\text{O}(\text{PB})_4(\text{H}_2\text{O})_2](\text{ClO}_4)_4$ est une preuve que l'oxydation se déroule selon un mécanisme centré sur le métal sans production de radicaux hydroxyle. En effet, l'hydroxylation du *cis*- et du *trans*-diméthylcyclohexane catalysée par le complexe $[\text{Fe}_2\text{O}(\text{PB})_4(\text{H}_2\text{O})_2](\text{ClO}_4)_4$ se fait sans perte de la configuration. De plus, il y a une énantiosélectivité lors de la catalyse d'hydroxylation de l'éthylbenzène (ee = 7%) et du diméthylindane (ee = 15%). Ces valeurs pour les excès énantiomériques sont certes faibles, néanmoins cette propriété du système $[\text{Fe}_2\text{O}(\text{PB})_4(\text{H}_2\text{O})_2](\text{ClO}_4)_4/\text{H}_2\text{O}_2$ est un élément supplémentaire en faveur d'une chimie non radicalaire.

III- La sulfoxydation énantiosélective de thioéthers

III-1. Avec des complexes mononucléaires de fer non héminique

Depuis une vingtaine d'années, les sulfoxydes énantipurs connaissent un vif intérêt en synthèse et catalyse asymétriques suite à la découverte faite au début des années 1980 selon laquelle ces molécules optiquement actives sont de très bons auxiliaires chiraux. De plus, ils entrent dans la composition de nombreuses substances bioactives, notamment médicamenteuses, comme l'oméprazole qui est l'un des médicaments les plus vendus au monde.⁸³ C'est la raison pour laquelle de nombreuses méthodes de catalyse d'oxydation asymétrique de thioéthers ont été développées. Celles utilisant des complexes de titane,^{84a} d'aluminium,^{84b} de vanadium,^{84c} et de manganèse^{84d} ont été les plus étudiées, contrairement aux complexes de fer, bien que ce métal soit plus abondant (donc peu cher) que ceux utilisés dans ce domaine. Le peu de cas où des catalyseurs à base de fer ont été développés font intervenir des porphyrines de fer possédant des structures complexes, et qui requièrent l'iodosylbenzène ou des alkylhydroperoxydes comme oxydants, et n'apportent que des excès énantiomériques modérés (< 50%).

Cependant, en 2003, Bolm et coll. ont mis au point un procédé catalytique permettant l'oxydation rapide de thioéthers avec une bonne énantiosélectivité (max. 90% ee). Cette méthode a consisté en la formation *in situ* d'un catalyseur à base de fer à partir de $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{acac})_3]$ et de ligands dérivés du (*S*)-*tert*-leucinol **1** (Schéma I-26).⁸⁵

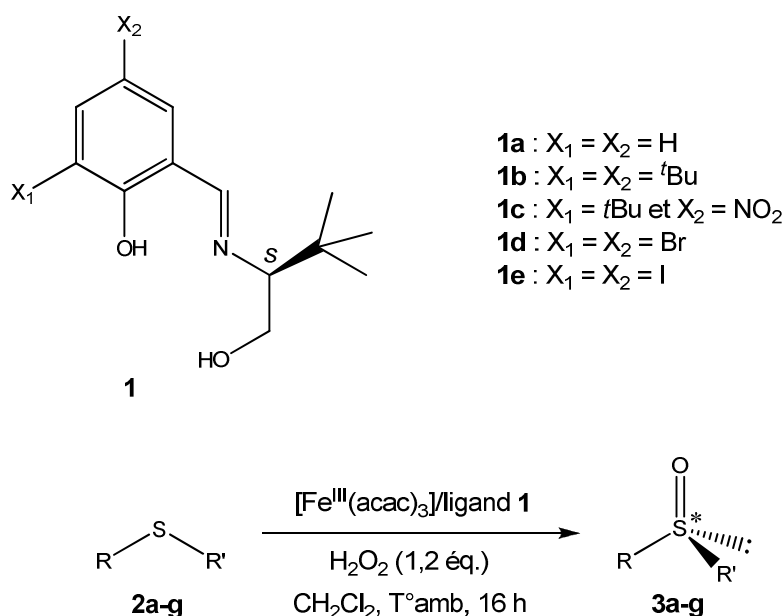


Schéma I-26. Système catalytique de Bolm et coll. à base de Fe^{III} effectuant l'oxydation asymétrique de thioéthers en sulfoxydes.

Ce procédé possède des avantages, et ce, à bien des égards. En effet, il permet de travailler à température ambiante et à l'air en utilisant le peroxyde d'hydrogène comme oxydant. De plus, le complexe $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{acac})_3]$ est commercial et peu cher. Pour ce qui est des ligands de type **1**, ils sont facilement synthétisables à partir de l'aminoalcool correspondant et des dérivés du salicylaldéhyde.

Les ligands **1a-c** n'ont pas permis d'atteindre de très bonnes énantiosélectivités avec le thioanisole comme substrat (ee = 26% avec **1a**, 13% avec **1b**, et 23% avec **1c**). Par contre, avec les ligands **1d** et **1e** ayant des substituants halogénés sur le cycle aromatique, l'énantiosélectivité est bien meilleure (ee = 55 et 59%, respectivement). En faisant varier les substrats et en utilisant uniquement **1e** comme ligand, de très bonnes énantiosélectivités ont été atteintes (ee = 70% pour le 2-naphtylméthylsulfure, 78% pour le *para*-bromophénylméthylsulfure, et 90% pour le *para*-nitrophénylméthylsulfure). Qui plus est, aucune sulfone n'a été détectée lors de la réaction, ce qui démontre que les énantiosélectivités obtenues ont résulté directement d'une oxydation asymétrique du substrat, et non d'une résolution cinétique par suroxydation du sulfoxyde.

Bien que ce procédé ait permis d'effectuer des catalyses de sulfoxydation asymétriques avec de très bons excès énantiomériques, les rendements ont été relativement faibles (15-44%). De plus, aucune investigation pour la compréhension du mécanisme n'a été

menée. Toutefois, ces travaux sont prometteurs pour le développement de nouveaux catalyseurs d'oxydation à base de fer.

Bryliakov et coll. ont publié, en 2004, leurs travaux sur deux complexes de fer possédant des ligands tétradentates de type salen pour effectuer la catalyse de sulfoxydation asymétrique de thioéthers avec l'iodosylbenzène comme oxydant (Schéma I-27).⁸⁶

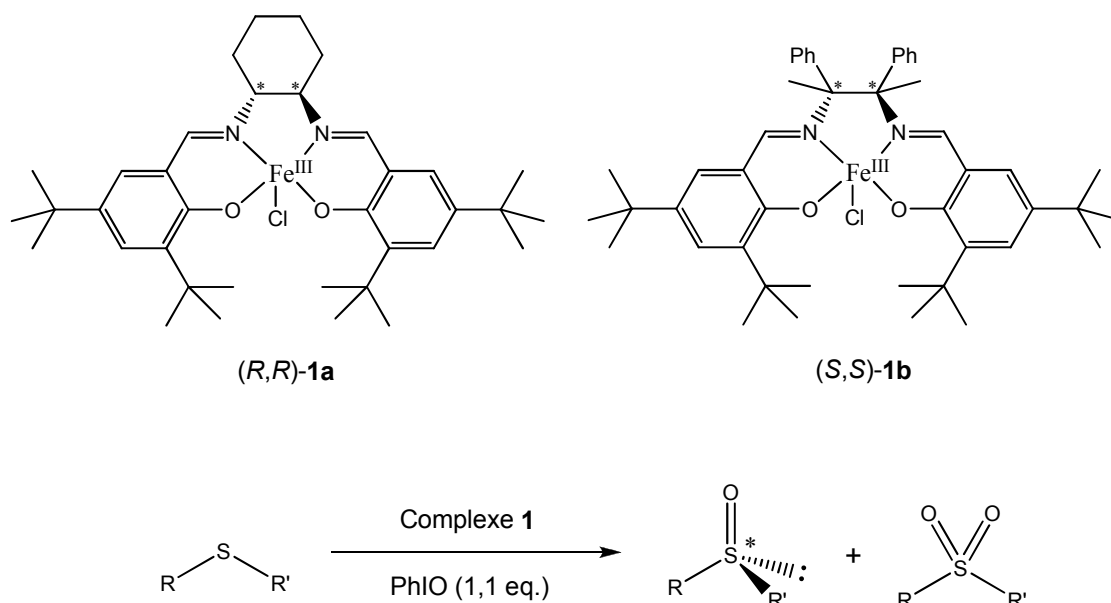


Schéma I-27. Catalyseurs à base de Fe^{III} utilisés pour la sulfoxydation énantiosélective.

Ces systèmes catalytiques se sont révélés efficaces en termes de conversion et de chimiosélectivité vis-à-vis de l'oxydation de différents thioéthers. Par contre, les valeurs des excès énantiomériques sont variables. Par exemple, pour l'oxydation du thioanisole ($R = \text{Ph}$ et $R' = \text{Me}$) avec **(R,R)-1a** dans le dichlorométhane, la conversion est de 74% avec une chimiosélectivité de 99% en faveur du sulfoxyde, mais l'énantiosélectivité est très faible ($ee = 20\%$). Néanmoins, lors des oxydations du *para*-bromophénylméthylsulfure ($R = p\text{-BrPh}$ et $R' = \text{Me}$) et du benzylphénylsulfure ($R = \text{PhCH}_2$ et $R' = \text{Ph}$) catalysées par **(R,R)-1a**, de bonnes valeurs pour les excès énantiomériques sont obtenues ($ee = 41$ et 58% , respectivement). Curieusement, en passant du dichlorométhane à l'acétonitrile comme solvant, et en utilisant le même complexe, l'oxydation du benzylphénylsulfure apporte un ee de 62% avec 95% de conversion pour le sulfoxyde correspondant. Quant au complexe **(S,S)-1b**, il n'a été testé qu'en oxydation du *para*-bromophénylméthylsulfure et du benzylphénylsulfure dans l'acétonitrile. Pour ces deux substrats, le taux de conversion est

sensiblement le même (90% pour le premier et 91% pour le second), et la chimiosélectivité est de 90% pour le premier et de 85% pour le second. L'oxydation du benzylphénylsulfure s'est faite avec une meilleure énantiosélectivité que celle du *para*-bromophénylméthylsulfure (ee = 62 et 43%, respectivement).

Cependant, les oxydations catalysées par les deux mêmes catalyseurs en employant d'autres oxydants (peroxyde d'hydrogène, *t*BuOOH, NaOCl et *m*-CPBA), n'ont donné aucune énantiosélectivité. De plus, aucune réaction n'a eu lieu avec l'hypochlorite de sodium concernant le benzylphénylsulfure.

Bryliakov et coll. se sont aussi investis dans des études mécanistiques à l'aide de la RPE et de la RMN ^1H . Ces travaux ont mis en évidence l'intervention d'un intermédiaire $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{salen})(\text{OIPh})]$ lors de l'oxydation des thioéthers catalysée par les complexes (*R,R*)-**1a** et (*S,S*)-**1b**.

En 2007, Katsuki et coll. ont élaboré des complexes de fer de type Fe(salan) pour effectuer la catalyse de sulfoxydation énantiosélective, et ce, dans l'eau avec comme oxydant du peroxyde d'hydrogène (Schéma I-28).⁸⁷

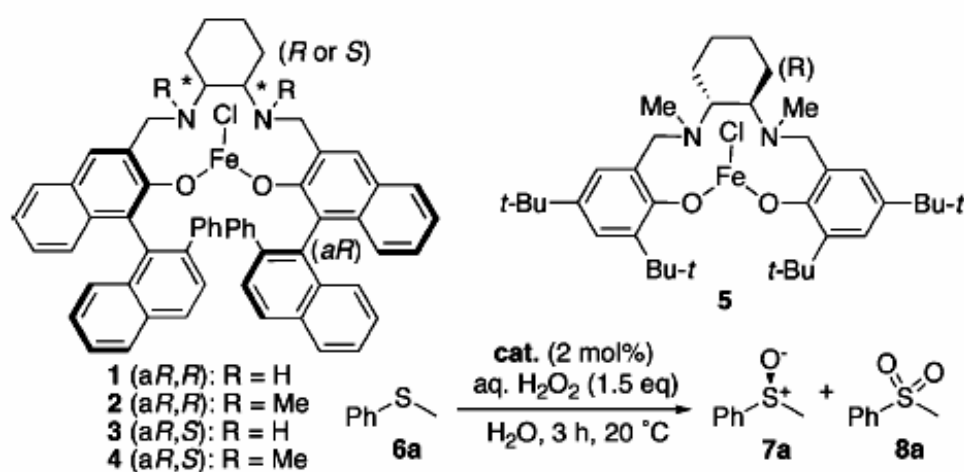


Schéma I-28. Complexes Fe(salan) comme catalyseurs de l'oxydation énantiosélective du thioanisole.⁸⁷

Ces catalyseurs chiraux ont permis d'accéder à de bons rendements en sulfoxydes et à de très bons excès énantiomériques (Rdt = 89% et ee = 88% avec le complexe **3**, Rdt = 91% et ee = 96% avec le complexe **4**). Quant au complexe **5**, il s'est avéré être peu efficace en termes de rendement et d'énantiosélectivité (Rdt = 21% et ee < 5%). Ces travaux ont montré que le complexe **4** est le catalyseur avec lequel les meilleurs rendements en sulfoxydes sont obtenus,

avec de très bonnes énantiosélectivités. Ainsi, a-t-il été utilisé pour des expériences d'oxydation asymétrique sur une gamme variée de thioéthers (Schéma I-29).⁸⁷

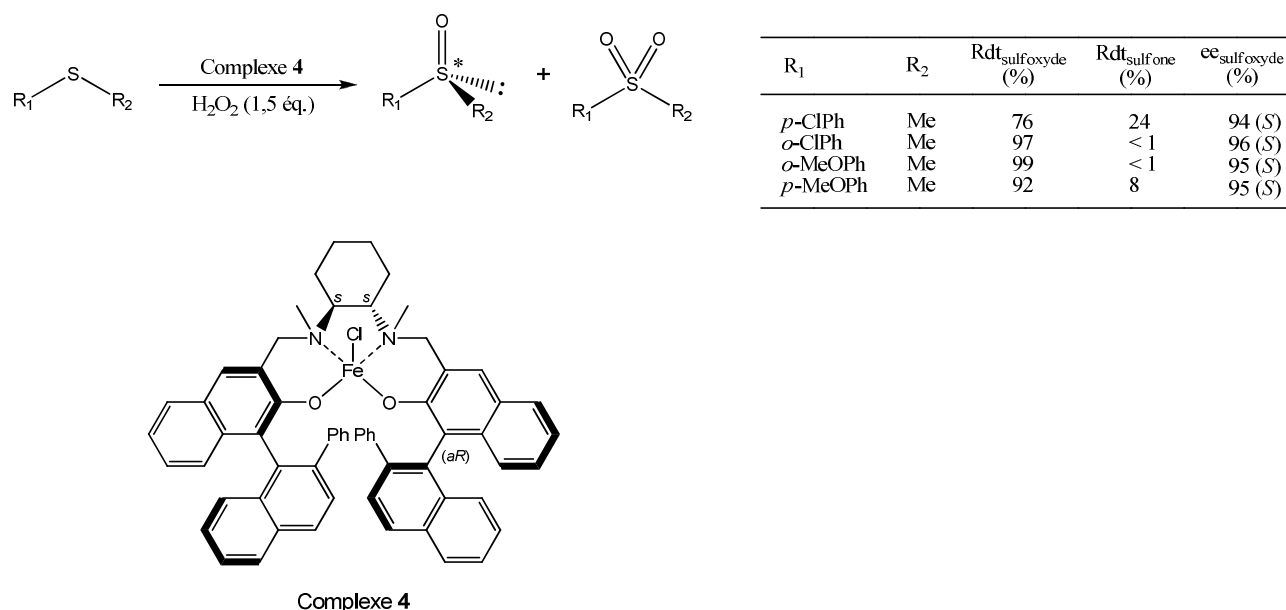


Schéma I-29. Oxydation asymétrique de différents thioéthers catalysée par le complexe **4**.

Ces études ont mis en exergue que la sulfoxydation de thioéthers possédant un groupement aromatique substitué en position *ortho*, produit extrêmement peu de sulfones permettant d'accéder à des réactions très chimiosélectives tout en étant très énantiosélectives

Des analyses en RMN ¹H du système **4**/thioéther/D₂O ont montré un élargissement des pics correspondant au thioéther, indiquant la coordination de celui-ci sur le fer du complexe.

III-2. Avec des complexes dinucléaires de fer non héminique

Au début des années 1990, des complexes dinucléaires de fer non héminique possédant une structure inspirée du centre actif de la méthane monooxygénase (MMO) ont montré des capacités catalytiques d'oxydation. En 1997, Fontecave et coll. ont mis au point le complexe [Fe₂O(PB)₄(H₂O)₂](ClO₄)₄, où le ligand **PB** est une bipyridine sur laquelle est greffé un groupement pinène pour apporter une chiralité au système (Schéma I-30).⁸⁸

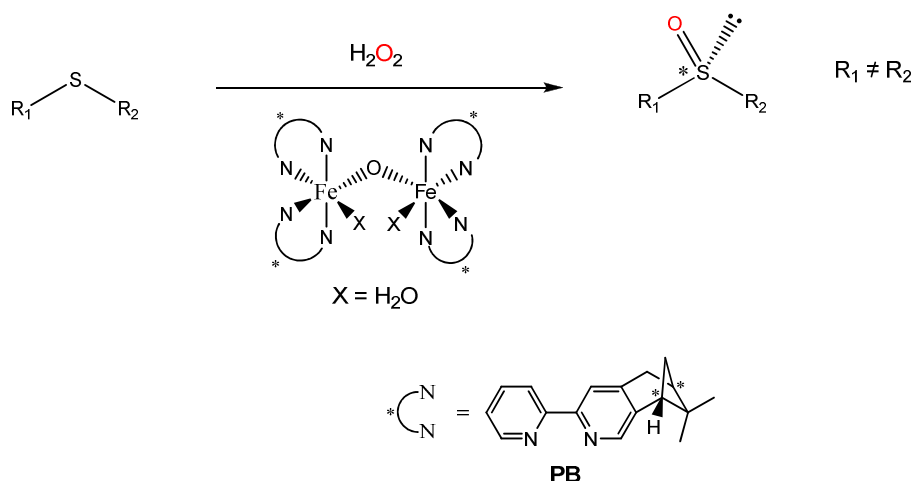


Schéma I-30. Catalyse d'oxydation d'alcanes et d'oxydation énantiosélective de thioéthers avec le complexe $[Fe_2O(PB)_4(H_2O)_2](ClO_4)_4$.

Ce complexe s'est révélé apte à catalyser l'oxydation énantiosélective de thioéthers avec l'obtention de très bon rendements sans production de sulfone (78% de rendement pour la sulfoxydation du diméthylsulfure, 68% pour l'oxydation du *para*-tolylméthylsulfure, 90% pour celle du *para*-bromophénylméthylsulfure et 100% pour celle du thioanisole) ; ces réactions s'effectuant à $-15^\circ C$ avec le peroxyde d'hydrogène comme oxydant. Toutefois, les valeurs des excès énantiomériques sont assez faibles ($ee = 21\%$ pour l'oxydation du thioanisole, 28% pour celle du *para*-tolylméthylsulfure et 40% pour celle du *para*-bromophénylméthylsulfure).

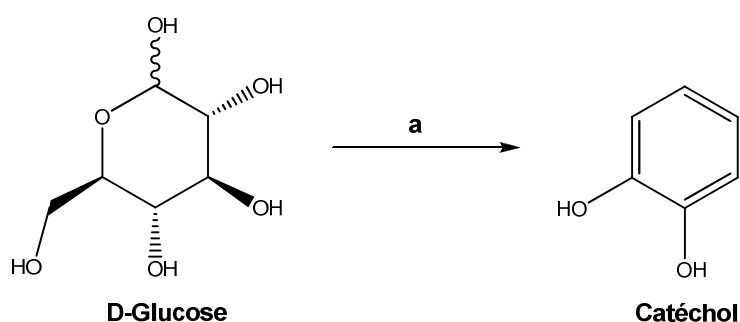
Il n'en reste pas moins que ce complexe dinucléaire de fer possède des propriétés fort intéressantes, à savoir l'obtention de très bons rendements et une stéréosélectivité significative, ouvrant un large champ d'investigations pour la catalyse asymétrique d'oxydation basée sur des complexes dinucléaires de fer non hémique avec le peroxyde d'hydrogène comme oxydant.

IV- Conclusion

L'efficacité, la stabilité et la sélectivité apportées par différents complexes mononucléaires et dinucléaires de fer non hémique ouvrent la voie à un nouveau type de catalyseurs qui pourraient prochainement être utilisés en synthèse organique dans la préparation de molécules complexes (par exemple des principes actifs de médicaments) et en bioremédiation dans des conditions répondant aux critères de la "chimie verte".⁸⁹

Ces catalyseurs bio-inspirés constituent de précieux atouts pour la compréhension des mécanismes moléculaires qui se déroulent au sein des enzymes lors d'un cycle catalytique. Un autre aspect avantageux de la catalyse homogène est la possibilité pour les complexes de reconnaître une plus large gamme de substrats que les enzymes, et de catalyser une plus grande variété de réactions. De plus, le transfert de chiralité peut être inversé par simple changement de la configuration de la copule chirale.

Toujours est-il que ces complexes de fer sont loin d'atteindre les performances des enzymes, que se soient en termes de nombre de cycles catalytiques et de sélectivité. En outre, la majorité des complexes qui a été décrite est utilisée en phase organique. C'est pour ces raisons qu'actuellement les industries misent davantage sur la biocatalyse, où des enzymes sont utilisées comme catalyseurs, ainsi que les biotechnologies avec des organismes entiers à l'exemple de bactéries génétiquement modifiées qui deviennent de véritables "usines chimiques" (Schéma I-31).⁹⁰



^a *E. coli* AB2834/pKD136/pKD9.069A, 37°C

Schéma I-31. Transformation du glucose en catéchol par une souche de *E. coli* génétiquement modifiée.⁹⁰

Cependant, une autre stratégie étudiée depuis la fin des années 1970 dans différents laboratoires de part le monde, pourrait fournir une autre méthode catalytique ayant l'avantage de réunir les mondes de la catalyse chimique et de la biocatalyse en tirant profit des avantages des deux domaines. Cette nouvelle stratégie repose sur l'utilisation de métalloenzymes artificielles.

C. Les métalloenzymes artificielles

I- Concept général

Les limites de la catalyse homogène à base de complexes de métaux et de la biocatalyse ont conduit les chercheurs à concevoir de nouveaux types de catalyseurs possédant une efficacité et une sélectivité proches de celles des enzymes. Cependant, nous avons vu que celles-ci, malgré leurs nombreuses qualités, ne pouvaient totalement satisfaire aux prérogatives industrielles, et ce, du fait qu'elles ne peuvent catalyser qu'un nombre restreint de substrats et sont spécifiques d'une réaction donnée, contrairement aux complexes métalliques qui possèdent une plus large gamme de substrats et une meilleure variabilité au niveau des types de réactions pouvant être catalysés. Il n'en reste pas moins que les enzymes répondent aux directives de la "chimie verte", ce qui est rarement le cas pour les complexes métalliques, même ceux qui sont bio-inspirés.

Ceci dit, la comparaison des deux méthodes catalytiques met en exergue leur complémentarité, comme le montre le Tableau I-1.

| | Catalyse homogène | Biocatalyse |
|--|--------------------------|--------------------|
| Nombre de substrats | Grand | Petit |
| Solvant | Organique | Aqueux |
| Répertoire réactionnel | Large | Restreint |
| 2 nd sphère de coordination | Mal définie | Bien définie |
| Nombre d'énantiomère | Deux | Un |
| Nombre de cycle catalytique | Moyen à petit | Grand |
| Optimisation | Chimique | Génétique |
| Recyclage | Problématique | Aisé |

Tableau I-1. Comparaison des différentes propriétés de la catalyse homogène et de la biocatalyse.

Cette comparaison donne une perspective pour la conception d'un catalyseur qui réunirait les avantages de la catalyse homogène et de la biocatalyse, notamment la possibilité de travailler en phase aqueuse et d'effectuer la catalyse asymétrique sur de nombreux substrats avec l'obtention d'un grand nombre de cycles catalytiques.

Les métalloenzymes artificielles se sont révélées les plus aptes à desservir cet objectif.⁹¹ Cette conception originale consiste en l'introduction d'un complexe métallique

achiral, ayant une activité catalytique, au sein de la poche hydrophobe d'une protéine globulaire ; ainsi, en résulte-t-il un hybride bio-inorganique qui peut être décrit selon deux sphères de coordination (Figure I-17).^{91d}

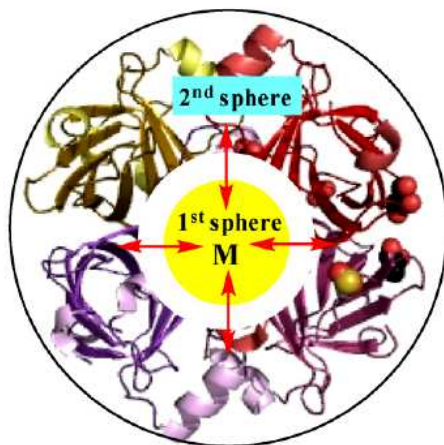


Figure I-17. Représentation schématique d'une métalloenzyme artificielle avec le complexe métallique M (jaune) entouré par des acides aminés de la protéine.^{91d}

La première sphère de coordination correspond aux atomes du ligand coordonnant l'ion métallique, tandis que la seconde sphère de coordination est constituée d'acides aminés de la protéine interagissant avec le complexe aussi bien au niveau du ligand que de l'ion métallique. Pour ces hybrides, le type de réactivité est dicté par le complexe inorganique issu de la chimie de coordination. Cependant, contrairement à la catalyse homogène où le complexe est dans un environnement mal défini qui est le solvant, dans le cas des métalloenzymes artificielles, le complexe est enfoui au sein de la cavité de la protéine dans une disposition déterminée en interagissant avec des acides aminés de la protéine hôte, ceux-ci apportant donc une seconde sphère de coordination bien définie. Hormis l'ancrage covalent de certains complexes métalliques, les interactions entre les acides aminés de la protéine et le complexe sont des liaisons faibles non covalentes supramoléculaires, à savoir des liaisons hydrogène, des liaisons ioniques et des interactions hydrophobes tel le π -stacking entre deux noyaux aromatiques (Figure I-18).⁹²

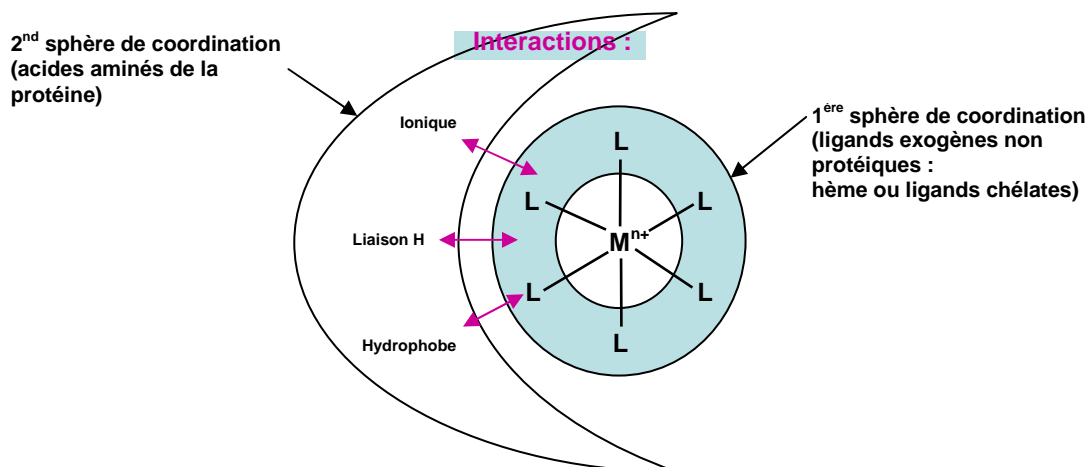


Figure I-18. Les interactions non covalentes s'établissant entre une protéine et un complexe métallique.

Il est crucial que cet aspect des hybrides bio-inorganiques soit pris en compte pour nous amener à comprendre le transfert de chiralité selon l'établissement de liaisons non covalentes – contrairement aux complexes utilisés en catalyse homogène où la copule chirale est insérée de façon covalente aux ligands – apportant ainsi une meilleure compréhension du mécanisme catalytique des métalloenzymes naturelles.

En outre, les métalloenzymes artificielles peuvent être optimisées par des modifications de la première et/ou de la seconde sphère de coordination. En effet, le complexe métallique peut être modifié chimiquement au niveau du ligand ou l'ion métallique remplacé ; quant à la seconde sphère de coordination, la modification peut se faire par mutagenèse dirigée. Cette approche chimio-génétique met clairement en évidence que la nature hybride des métalloenzymes artificielles permet de réunir les compétences de la chimie et de la biologie.⁹³

II- Elaboration d'oxygénases artificielles

Les recherches sur les métalloenzymes artificielles ont débuté depuis 1978 avec les travaux pionniers de Wilson et Whitesides.⁹⁴ Dès lors, plusieurs équipes de chercheurs à travers le monde se sont investies dans l'élaboration de ces nouveaux catalyseurs en utilisant différentes stratégies d'incorporation du complexe métallique dans la protéine hôte. Celles-ci sont au nombre de trois : l'insertion covalente, l'insertion dative et l'insertion par reconnaissance supramoléculaire. Nous nous proposons de les décrire par l'illustration de métalloenzymes artificielles ayant pour but de catalyser diverses réactions d'oxydation.

II-1. Stratégie par insertion covalente

II-1.1. Avec une seule liaison covalente

Les complexes possédant un ligand de type salen sont connus pour être des catalyseurs performants et versatiles.⁹⁵ En 2007, Reetz et coll. ont incorporé un tel complexe dans la poche hydrophobe d'une protéine. Le choix s'est porté sur la papaïne, une cystéine-protéase, qui contient un résidu cystéine (Cys25) au sein d'une large cavité pouvant accueillir un métallo-salen (Figure I-19).⁹⁶

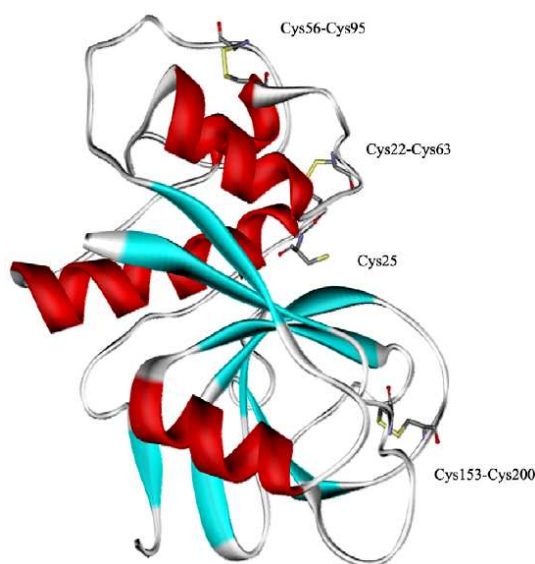


Figure I-19. Structure de la papaïne montrant le résidu Cys25 au sein de la cavité.⁹⁶

Ainsi, un complexe Mn(salen) possédant un bras avec un groupement maléimide, a été introduit par une liaison covalente qui résulte de la réaction du groupement thiol du résidu Cys25 sur le maléimide suivant une addition de Michael (Schéma I-32).⁹⁷

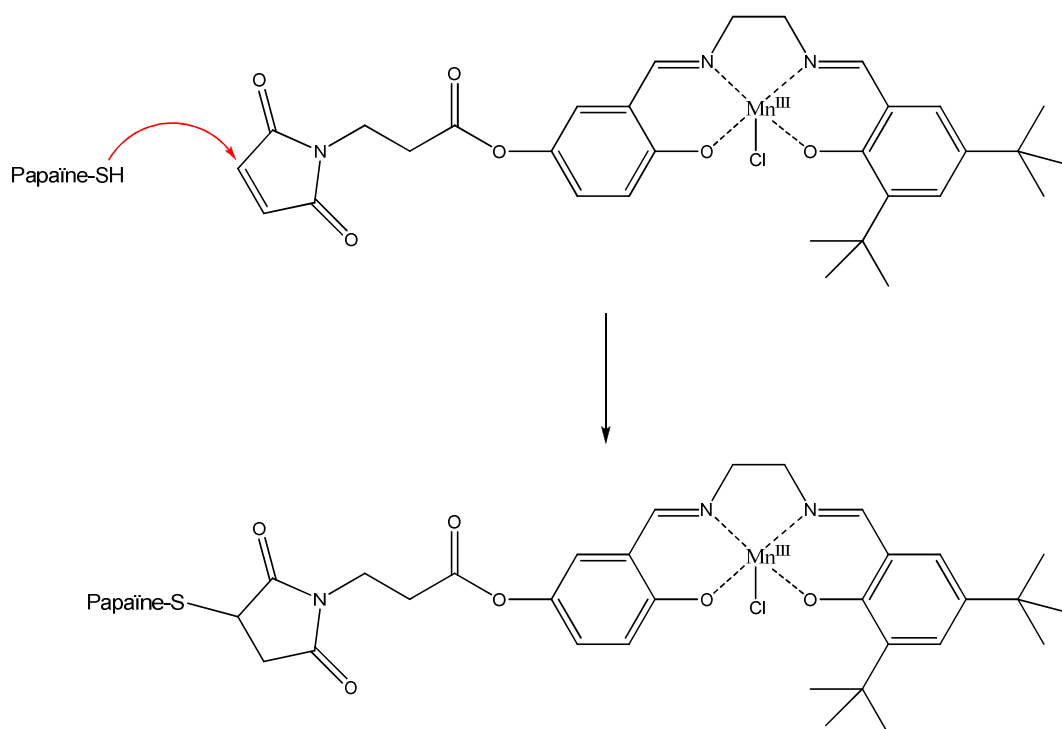


Schéma I-32. Addition de Michael du thiol du résidu Cys25 provenant de la papaine sur le groupement maléimide du complexe Mn(salen) pour attacher celui-ci à la protéine par une liaison covalente.

L'hybride a été testé en catalyse d'époxydation, mais des excès énantiomériques ne dépassant pas 10% ont été obtenus. A ce jour, aucune amélioration d'un tel système n'a été rapportée.

II-1.2. Avec deux liaisons covalentes

Lu et coll. ont préparé en 2004 une métalloenzyme artificielle en insérant un complexe Mn(salen) au sein d'une apomyoglobine (myoglobine dépourvue de son cofacteur naturel qui est l'hème) suivant deux liaisons covalentes. Pour ce faire, un résidu tyrosine (Y103) et un résidu lysine (L72) de la protéine ont été remplacés par deux résidus cystéine via la mutagenèse dirigée. Par conséquent, les groupements thiol de ces deux cystéines ont réagi avec les deux groupements méthane thiosulfonate insérés sur le ligand du complexe Mn(salen) établissant des ponts disulfure pour donner l'hybride Mn.1.apo-Mb (L72C/Y103C) (Figure I-20).⁹⁸

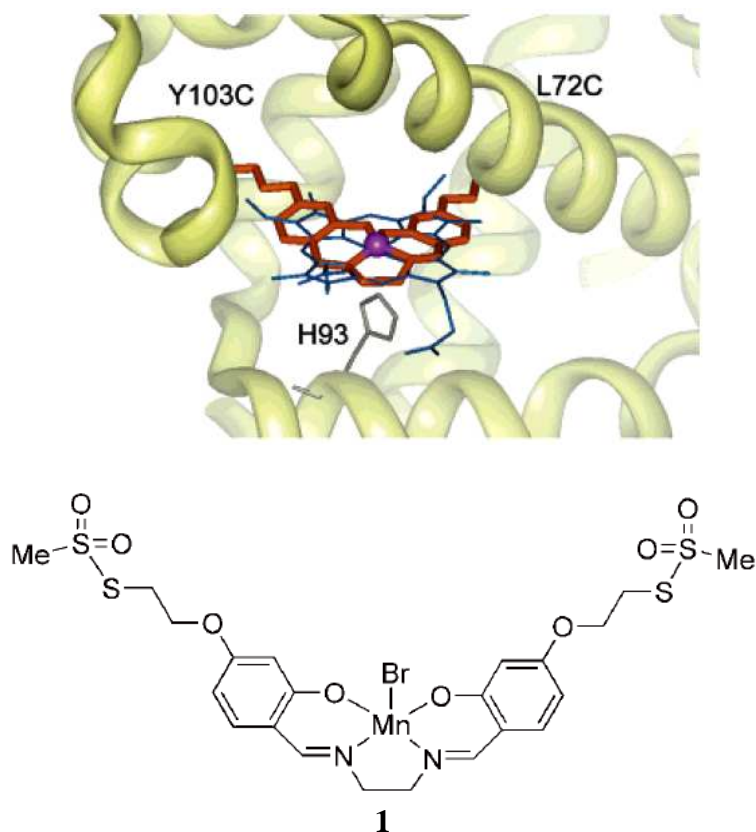


Figure I-20. Modélisation moléculaire montrant le complexe **1** dans l'apomyoglobine mutée après son insertion par deux liaisons covalentes. L'emplacement de l'hème est représenté en bleu et le complexe synthétique en rouge avec l'ion Mn^{III} en mauve.⁹⁸

La Figure I-15 ci-dessus met en évidence que le complexe **1** a été inséré de manière à ce qu'il soit dans le même plan où se trouvait l'hème.

L'hybride $\text{Mn.1.apo-Mb(L72C/Y103C)}$ a été testé en catalyse de sulfoxydation énantiosélective du thioanisole avec le peroxyde d'hydrogène comme oxydant (Schéma I-33).⁹⁸

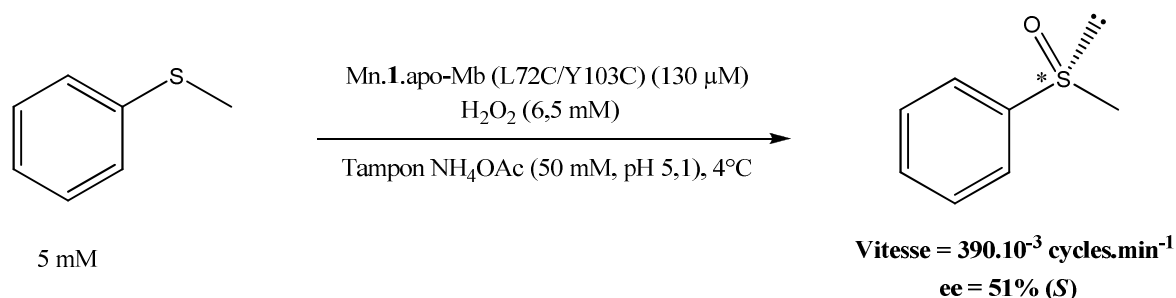


Schéma I-33. Catalyse d'oxydation énantiosélective du thioanisole en méthylphénylsulfoxyde avec l'hybride $\text{Mn.1.apo-Mb(L72C/Y103C)}$.

Cet hybride s'est révélé beaucoup plus actif que celui avec le même complexe, mais attaché par une seule liaison covalente (390.10^{-3} vs 51.10^{-3} cycles.min⁻¹). De plus, une assez bonne énantiosélectivité a été obtenue (ee = 51%) contrairement à l'hybride avec le complexe lié par une seule liaison (ee = 12%) ainsi qu'à celui reporté par Reetz et coll. (ee < 10%).

Lu et coll. expliquent cette différence au fait qu'une seule liaison covalente autorise trop de degrés de liberté pour le complexe, ainsi l'ancrage par deux liaisons permet d'atténuer une trop grande flexibilité du complexe, mais aussi de s'assurer du positionnement et du maintien de celui-ci au sein de la protéine.

II-2. Stratégie par insertion dative

Dans la myoglobine native, le cofacteur héminique est lié à la chaîne polypeptidique par la coordination d'un atome d'azote d'un résidu histidine (His93) sur le centre métallique sans aucune autre liaison. Ce résidu est donc indispensable pour le maintien et le positionnement du cofacteur au sein de la protéine. En tenant compte de cette caractéristique, Watanabe et coll. ont mis au point en 2003 une métalloenzyme artificielle par incorporation non covalente d'un complexe Cr(salophen) dans la cavité d'une apo-Mb, celle-ci ayant été au préalable modifiée par mutagenèse dirigée. En effet, le résidu histidine distal (His64) se trouvant au-dessus de l'hème a été remplacé par un résidu aspartate et un résidu alanine (Ala71) par un résidu glycine augmentant ainsi l'espace distal afin d'obtenir une meilleure affinité du complexe pour la protéine, mais aussi de favoriser une approche du substrat et de l'oxydant à proximité du centre métallique du Cr(salophen) (Figure I-21).⁹⁹

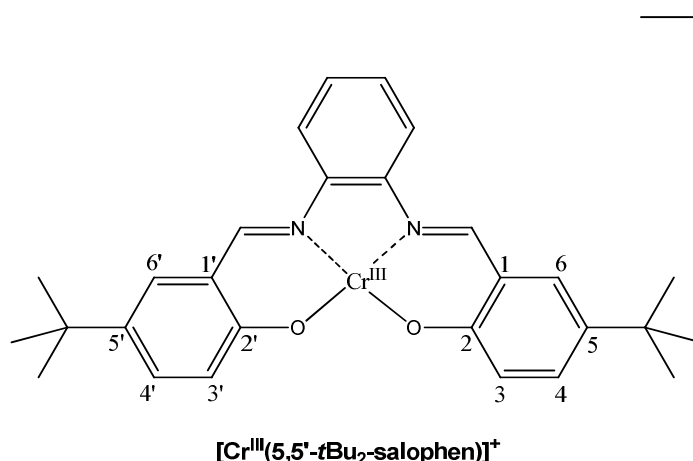
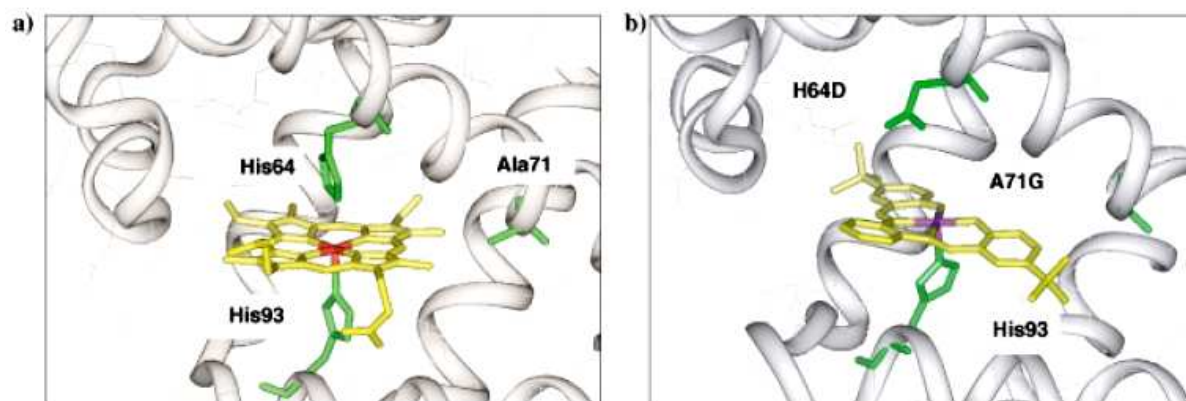


Figure I-21. Comparaison de la myoglobine native **a)** et de l'hybride Cr.2.apo-Mb (H64D/A71G) **b)**. L'hème et le complexe Cr(salophen) sont colorés en jaune, les résidus interagissant avec les cofacteurs et ceux qui sont mutés sont colorés en vert, l'ion Fe^{III} est coloré en rouge **a)** et l'ion Cr^{III} **b)** en mauve. Ces structures résultent de modélisations moléculaires.⁹⁹

La disposition similaire de l'hème et du cofacteur synthétique au sein de la protéine, et le fait qu'ils soient tous deux liés au résidu His93, met en évidence le rôle crucial de cet acide aminé dans l'insertion et le positionnement du complexe métallique au sein de l'apo-Mb.

L'hybride Cr.2.apo-Mb(H64D/A71G) a été testé en catalyse énantiosélective du thioanisole en utilisant le peroxyde d'hydrogène comme oxydant. L'activité catalytique s'est révélée modeste (78.10^{-3} cycles.min⁻¹) avec une faible énantiosélectivité (ee = 13%) (Schéma I-34).⁹⁹

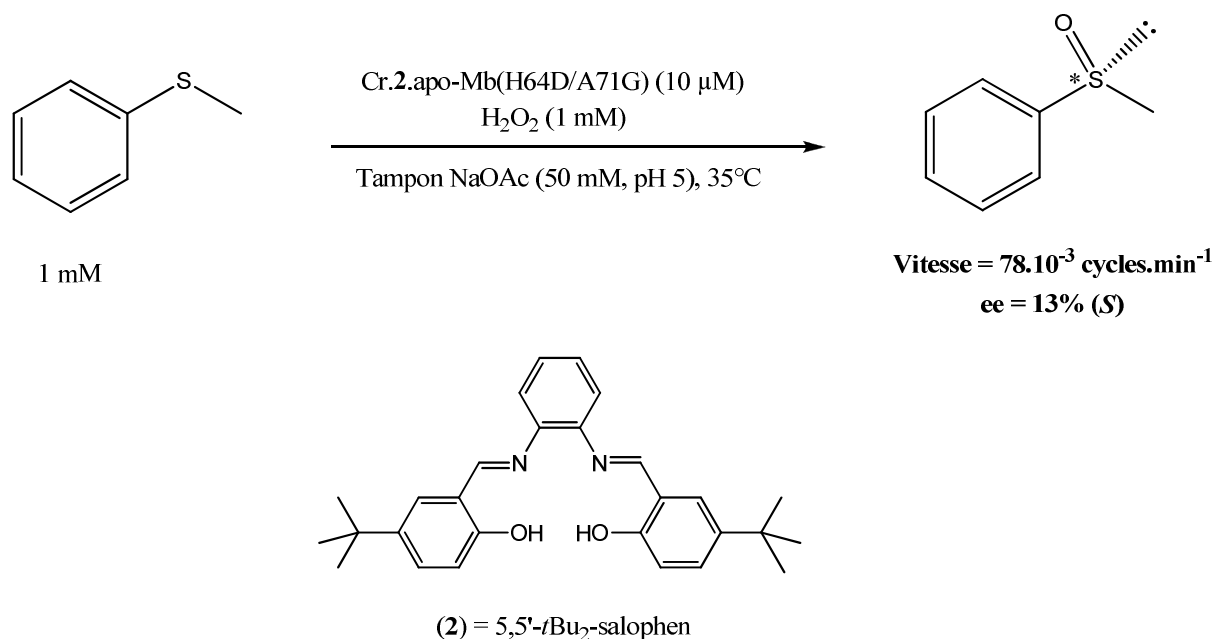


Schéma I-34. Sulfoxydation du thioanisole catalysée par l'hybride Cr.2.apo-Mb(H64D/A71G).

Néanmoins, le complexe Cr.2 utilisé seul, dans les mêmes conditions, donne une vitesse de seulement 13.10^3 cycles.min⁻¹ ; ceci indique que la protéine de l'hybride Cr.2.apo-Mb(H64D/A71G) permet d'accroître l'activité du complexe et d'apporter une énantiosélectivité au niveau de la réaction, même si celle-ci est faible.

II-3. Stratégie par insertion supramoléculaire

II-3.1. Introduction d'ions métalliques

La très forte affinité de la streptavidine pour la biotine ($K_d \sim 10^{-13}$ M) s'explique par l'existence de nombreuses interactions non covalentes telles les liaisons hydrogène. Cette propriété a amené Ward et coll. à élaborer une métalloenzyme artificielle par l'introduction d'un ion vanadyle dans le site de fixation de la biotine en espérant qu'il interagisse avec la protéine par des liaisons hydrogène. Différentes études (RPE, addition de biotine dans le milieu, modification génétique et docking) ont montré que l'ion vanadyle était présent dans la streptavidine, et plus précisément localisé au sein du site de liaison de la biotine. Ces études ont aussi fortement suggéré que c'était les cinq molécules d'eau entourant l'ion (espèce $[\text{VO}(\text{H}_2\text{O})_5]^{2+}$) qui établissaient des liaisons hydrogène avec des résidus de la protéine, à savoir deux sérines, un aspartate et une asparagine (Figure I-22).¹⁰⁰

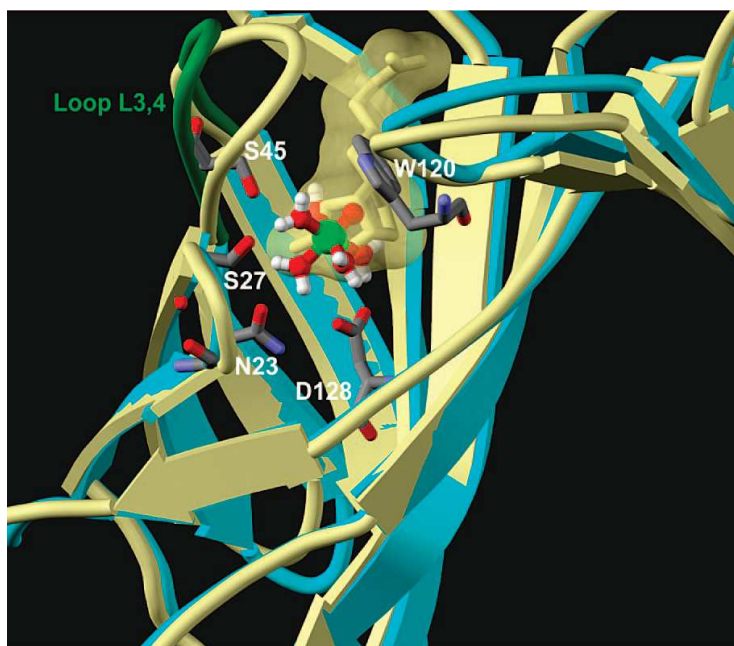


Figure I-22. Etude de docking montrant la localisation de l'espèce $[\text{VO}(\text{H}_2\text{O})_5]^{2+}$ au sein de la streptavidine, ainsi que ses interactions avec des résidus (Asp128, Asn23, Ser27 et Ser45) de la protéine par des liaisons hydrogène. Les atomes d'oxygène sont représentés en rouge ou orange, ceux d'azote en bleu, ceux d'hydrogène en blanc et celui de vanadium en vert.¹⁰⁰

Cette métalloenzyme artificielle s'est montrée active pour la catalyse énantiosélective de sulfoxydation de thioéthers avec le *tert*-butylhydroperoxyde comme oxydant. Avec le thioanisole comme substrat, une conversion de 94% a été obtenue avec toutefois une énantiosélectivité modeste ($ee = 46\%$). Par contre, l'oxydation du naphtylméthylsulfure se fait avec une conversion de 53% et un excès énantiomérique atteignant 93% (Schéma I-35).¹⁰⁰

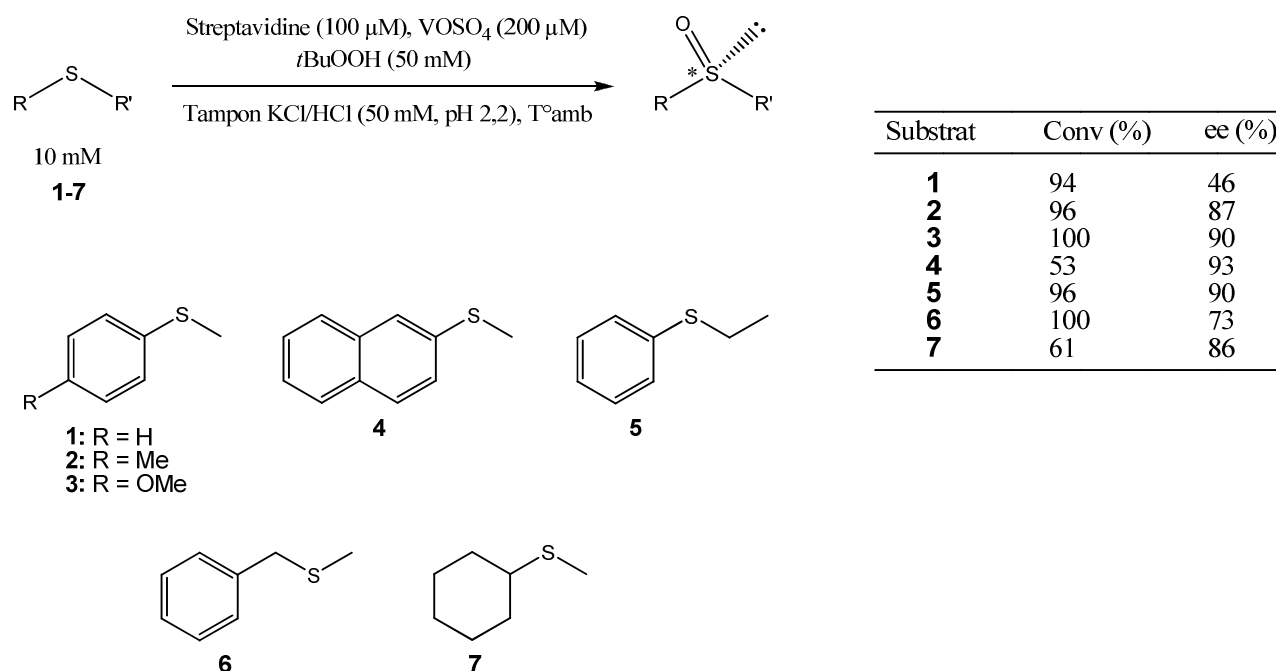


Schéma I-35. Utilisation de l'hybride $[\text{VO}]^{2+}$ /streptavidine pour la catalyse énantiosélective d'oxydation de thioéthers en sulfoxydes.

En outre, la présence de deux résidus tryptophane à proximité de l'ion permet une bonne approche des thioéthers comportant un noyau aromatique par l'intervention de π -stacking.

II-3.2. Stratégie du “Cheval de Troie”

Cette stratégie originale pour la préparation de métalloenzymes artificielles repose sur la reconnaissance d'une protéine pour une molécule organique, comme une enzyme pour son substrat ou un récepteur pour une hormone. Il est intéressant de souligner que la première métalloenzyme artificielle mise au point est issue de cette méthode. En effet, en 1978, Wilson et Whitesides ont relié à un complexe de rhodium (I), via un bras espaceur, une molécule de biotine qui a une très grande affinité pour l'avidine ($K_d \sim 10^{-15} \text{ M}$), celle-ci ayant donc le rôle d'ancre. Ainsi, lors de la reconnaissance de l'avidine pour la biotine, il y eu introduction concomitante du complexe au sein de la protéine (Figure I-23).⁹⁴

Lors de la réduction de l'acide *N*-acétamidoacrylique en *N*-acétamidolalanine catalysée par l'hybride, une conversion quantitative et un excès énantiomérique de 41% ont été obtenus.

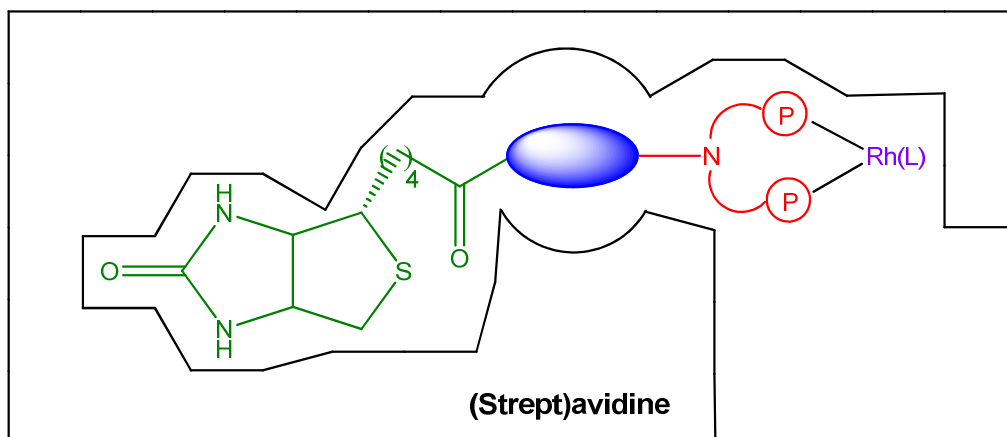
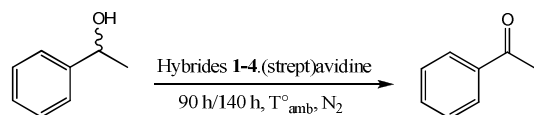


Figure I-23. Illustration de la stratégie du “Cheval de Troie” à travers l’exemple de l’approche biotine/(strept)avidine. La biotine est colorée en vert, le bras espaceur en bleu, la partie complexante en rouge et le métal en mauve. (strept)avidine = streptavidine ou avidine.

En 2005, Ward et coll. ont testé le système biotine/(strept)avidine dans la catalyse d’oxydation d’alcools secondaires en cétones. Quatre catalyseurs organométalliques différents ont été utilisés pour faire des métalloenzymes artificielles avec l’avidine ou la streptavidine (Schéma I-36).¹⁰¹



Conditions : alcool (62,5 μmol), $t\text{BuOOH}_{\text{aq}}$ (75 μmol), complexe (0,25 μmol) dissous dans DMF, protéine (0,08 μmol) dissous dans mélange H_2O /acétone (500 μL /100 μL)

| Complexe | Protéine | Rdt (%) |
|----------|---------------|---------|
| 1 | Streptavidine | 81 |
| 2 | Streptavidine | 69 |
| 3 | Streptavidine | 3 |
| 4 | Streptavidine | 12 |
| 1 | Avidine | 92 |

Avec les complexes **3** et **4**, le temps réactionnel est de 140 h

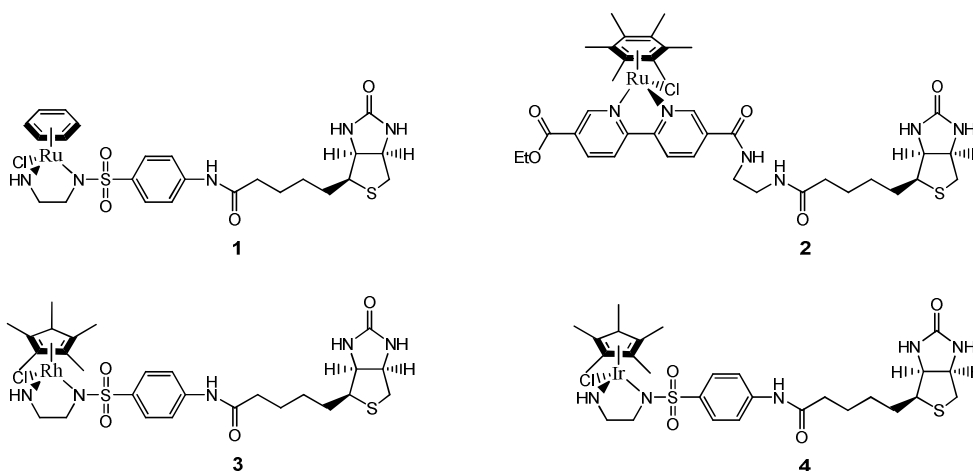


Schéma I-36. Oxydation de l’alcool phénéthique en acétophénone catalysée par quatre différents hybrides suivant le système biotine/(strept)avidine.

Jusqu'à ce jour, peu d'hybrides avec une composante inorganique à base de fer non hémunique ont été conçus par la stratégie d'insertion non covalente dans le but d'effectuer la catalyse énantiosélective de réactions d'oxydation telles que l'hydroxylation de composés saturés, la *cis*-dihydroxylation de composés aromatiques, la *cis*-dihydroxylation et l'époxydation de composés insaturés, ainsi que la sulfoxydation de thioéthers.

Néanmoins, Ménage et coll. s'investissent dans la conception d'oxygénases artificielles en employant cette stratégie pour introduire des complexes de fer non hémunique. L'objectif est l'utilisation de tels hybrides pour la catalyse asymétrique d'oxydation d'alcanes, d'alcènes et de thioéthers. Pour preuve, des travaux ont été publiés en 2009, ceux-ci ayant consisté à insérer différents complexes Mn(salen) dans l'albumine sérique humaine (HSA) sans liaisons covalentes ou datives. La catalyse de sulfoxydation du thioanisole a mis clairement en évidence les effets de la charpente protéique sur le complexe métallique du point de vue de l'activité catalytique de celui-ci et de la chimiosélectivité de la réaction. En effet, l'activité catalytique du complexe Mn.1 seul en solution apporte une conversion de 62,5% du thioanisole en sulfone. Par contre, une conversion de 75% et une sélectivité de 89% en faveur du sulfoxyde sont obtenues avec l'hybride Mn.1.HSA. Les mêmes caractéristiques sont trouvées pour les quatre complexes (Schéma I-37).¹⁰²

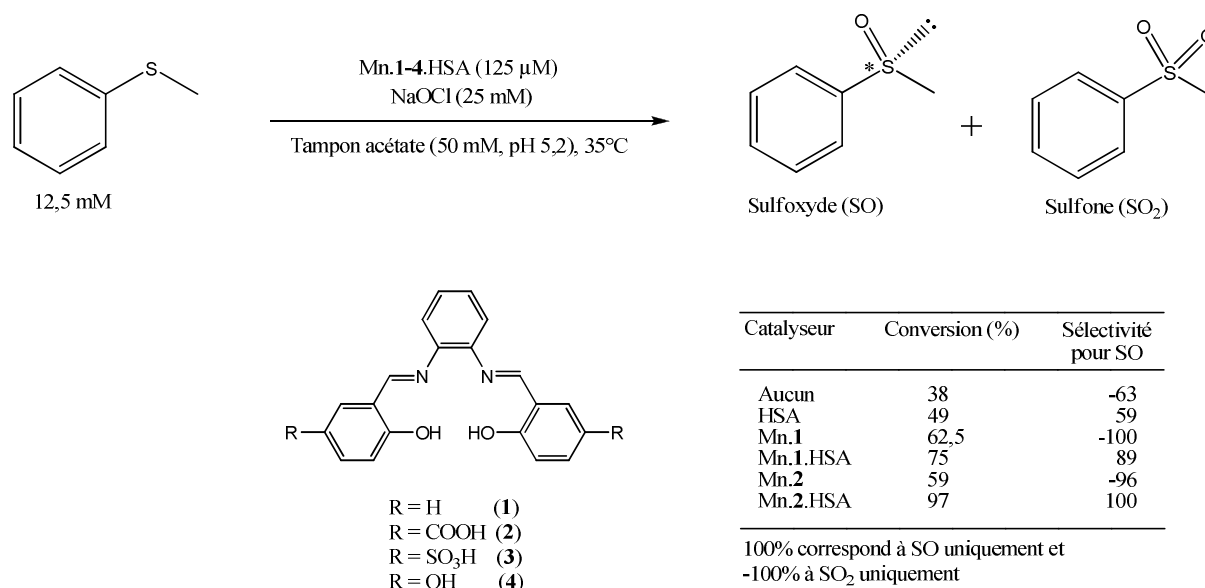


Schéma I-37. Catalyse d'oxydation du thioanisole par différents hybrides Mn(salen).HSA.

Malgré un effet intéressant de HSA sur la chimiosélectivité de l'oxydation du thioanisole, aucune énantiosélectivité n'a été observée, ce qui peut s'expliquer par

l'emplacement du complexe dans la "gorge" de la protéine, cavité trop large pour permettre une énantiodiscrimination.

Lors de ces travaux, Ménage et coll. ont eu la surprise de découvrir que la protéine seule possède une activité dans l'oxydation du thioanisole (49% de conversion) avec une sélectivité non négligeable en faveur du sulfoxyde (59%). Ce phénomène peut s'expliquer par une prise en charge de la réaction par des acides aminés de la protéine ; en effet, depuis une dizaine d'années, des publications font découvrir l'existence d'oxygénases ayant la propriété d'activer l'oxygène moléculaire sans recourir à des cofacteurs organiques ou métalliques.¹⁰³

III- Conclusion

Les métalloenzymes artificielles constituent à n'en pas douter une source majeure d'activités de recherche selon différentes directions comme la catalyse asymétrique et la compréhension des mécanismes fondamentaux régissant les propriétés des métalloenzymes naturelles, sans compter qu'elles ont l'avantage de servir de support chiral pour les différents catalyseurs bio-inspirés synthétisés, permettant ainsi de les valoriser en vue d'applications dans les domaines industriels, et ce, en accord avec les principes de la "chimie verte". Qui plus est, il existe une synergie entre le cofacteur synthétique et la plateforme protéique se traduisant par une activité accrue du catalyseur et une chimio- et énantiosélectivité.

Bien que certains hybrides apportent des activités catalytiques et des sélectivités non négligeables, la plupart sont loin d'atteindre les performances et la sélectivité des enzymes naturelles, et même de certains catalyseurs métalliques. Il n'en demeure pas moins que la nature de ces catalyseurs offre la possibilité d'optimisations variées tant chimiques que biochimiques. Les progrès en biologie moléculaire et en modélisation permettent d'effectuer des modifications fines d'enzymes par ajout d'acides aminés bien déterminés et orientés pour améliorer l'efficacité et/ou la sélectivité, ou même pour créer *de novo* une activité catalytique au niveau d'une protéine qui en est dépourvue.^{91e,91f,103} Il existe aussi la méthode dite d'évolution dirigée pour la sélection d'enzymes plus performantes et sélectives pour une réaction souhaitée, celle-ci pouvant ne pas être catalysée par les enzymes naturelles.^{91f,97,104a,105}

En conséquence, la recherche sur les métalloenzymes artificielles – et même autres enzymes artificielles – n'en est qu'à ses balbutiements. De nombreux travaux sont encore à faire pour espérer, peut-être un jour, avoir des catalyseurs extrêmement performants et sélectifs n'ayant aucun impact délétère sur la nature.

Références :

- (1) Denisov, I. G.; Makris, T. M.; Sligar, S. G.; Schlichting, I. *Chem. Rev.* **2005**, *105*, 2253-2277.
- (2) Omura, T.; Sato, R. *J. Biol. Chem.* **1964**, *239*, 2370.
- (3) (a) Ortiz de Montellano Paul, R., Ed. *Cytochrome P450: Structure, Mechanism, and Biochemistry*, 3rd ed.; Kluwer Academic/Plenum Publishers: New York, 2005. (b) Shaik, S.; Cohen, S.; Wang, Y.; Chen, H.; Kumar, D.; Thiel, W. *Chem. Rev.* **2010**, *110*, 949-1017.
- (4) Sevrioukova, I. R.; Li, H.; Zhang, H.; Peterson, J. A.; Poulos, T. L. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1999**, *96*, 1863-1868.
- (5) (a) Conrad, H. E.; Lieb, K.; Gunsalus, I. C. *J. Biol. Chem.* **1965**, *240*, 4029-4037. (b) Hedegaard, J.; Gunsalus, I. C. *J. Biol. Chem.* **1965**, *240*, 4038-4043. (c) Katagiri, M.; Ganguli, B. N.; Gunsalus, I. C. *J. Biol. Chem.* **1968**, *243*, 3543-3546.
- (6) Schlichting, I.; Berendzen, J.; Chu, K.; Stock, A. M.; Maves, S. A.; Benson, D. E.; Sweet, R. M.; Ringe, D.; Pestko, G. A.; Sligar, S. G. *Science* **2000**, *287*, 1615-1622.
- (7) (a) Newcomb, M.; Toy, P. H. *Acc. Chem. Res.* **2000**, *33*, 449-455. (c) Nam, W. *Acc. Chem. Res.* **2007**, *40*, 522-531. (b) Groves, J. T. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2003**, *100*, 3569-3574.
- (8) Sligar, S. G. *Biochemistry* **1976**, *15*, 5399-5406.
- (9) Egawa, T.; Ogura, T.; Makino, R.; Ishimura, Y.; Kitagawa, T. *J. Biol. Chem.* **1991**, *266*, 10246-10248.
- (10) (a) Davydov, R.; Macdonald, I. D. G.; Makris, T. M.; Sligar, S. G.; Hoffman, B. M. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 10654-10655. (b) Mak, P. J.; Denisov, I. G.; Victoria, D.; Makris, T. M.; Deng, T.; Sligar, S. G.; Kincaid, J. R. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 6382-6383. (c) Denisov, I. G.; Mak, P. J.; Makris, T. M.; Sligar, S. J.; Kincaid, J. R. *J. Phys. Chem. A* **2008**, *112*, 13172-13179.
- (11) (a) Vaz, A. D. N.; McGinnity, D. F.; Coon, M. J. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1998**, *95*, 3555-3560. (b) Newcomb, M.; Shen, R.; Choi, S.-Y.; Toy, P. H.; Hollenberg, P. F.; Vaz, A. D. N.; Coon, M. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 2677-2686. (c) Hlavica, P. *Eur. J. Biochem.* **2004**, *271*, 4335-4360.
- (12) Ho, R. Y. N. ; Que, L., Jr. *Chem. Rev.* **1996**, *96*, 2607-2624.
- (13) Costas, M. ; Mehn, M. P. ; Jensen, M. P.; Que, L., Jr. *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 939-986.
- (14) Koehntop, K. D.; Emerson, J. P.; Que, L., Jr. *J. Biol. Inorg. Chem.* **2005**, *10*, 87-93.
- (15) Kovaleva, E. G.; Lipscomb, J. D. *Nat. Chem. Biol.* **2008**, *4*, 186-193.

- (16) Kappock, T. J.; Caradonna, J. P. *Chem. Rev.* **1996**, *96*, 2659-2756.
- (17) Gibson, D. T. Microbial Metabolism of Aromatic Hydrocarbons and the Carbon Cycle. In *Microbial Metabolism and the Carbon Cycle*; Hagedorn, S. R., Hanson, R. S., Kunz, D. A., Eds.; Harwood Academic Publishers: Chur, Switzerland, **1988**; pp 33-58.
- (18) (a) Batie, C. J.; LaHaie, E.; Ballou, D. P. *J. Biol. Chem.* **1987**, *262*, 1510-1518. (b) Wolfe, M. D.; Altier, D. J.; Stubna, A.; Popescu, C. V.; Münck, E.; Lipscomb, J. D. *Biochemistry* **2002**, *41*, 9611-9626. (c) Lee, K.; Friemann, R.; Parales, J. V.; Gibson, D. T.; Ramaswamy, S. *Acta. Cryst. F* **2005**, *61*, 669-672. (d) Wolfe, M. D.; Parales, J. V.; Gibson, D. T.; Lipscomb, J. D. *J. Biol. Chem.* **2001**, *276*, 1945-1953.
- (19) Kauppi, B.; Lee, K.; Carredano, E.; Parales, R. E.; Gibson, D. T.; Eklund, H.; Ramaswamy, S. *Structure* **1998**, *6*, 571-586.
- (20) Karlsson, A. ; Parales, J. V. ; Parales, R. E. ; Gibson, D. T. ; Eklund, H. ; Ramaswamy, S. *Science*, **2003**, *299*, 1039-1042.
- (21) Bassan, A ; Blomberg, M. R. A ; Siegbahn, P. E. M. *J. Biol. Inorg. Chem.* **2004**, *9*, 439-452.
- (22) Chen, K.; Que, L., Jr. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 2227-2229.
- (23) Chakrabarty, S. ; Austin, R. N. ; Deng, D.; Groves, J. T.; Lipscomb, J. D. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 3514-3515.
- (24) Feng, Y.; Ke, C.-y.; Xue, G.; Que, L., Jr. *Chem. Commun.* **2009**, 50-52.
- (25) Resnick, S. M.; Lee, K.; Gibson, D. T. *J. Ind. Microbiol and Biotech.* **1996**, *17*, 438-457.
- (26) Bruijninx, P. C. A.; van Koten, G.; Klein Gebbink, R. J. M. *Chem. Soc. Rev.* **2008**, *37*, 2716-2744.
- (27) Kershaw, N. J.; Caines, M. E. C.; Sleeman, M. C.; Schofield, C. J. *Chem. Commun.* **2005**, 4251-4263.
- (28) Hanauske-Abel, H. M.; Popowicz, A. M. *Curr. Med. Chem.* **2003**, *10*, 1005-1019.
- (29) Fukumori, F.; Hausinger, R. P. *J. Biol. Chem.* **1993**, *268*, 24311-24317.
- (30) Yi, C.; Yang, C-G.; He, C. *Acc. Chem. Res.* **2009**, *42*, 519-529.
- (31) Kung, A. L.; Wang, S.; Klco, J. M.; Kaelin, W. G., Jr.; Livingston, D. M. *Nat. Med.* **2000**, *6*, 1335-1340.
- (32) Elkins, J. M.; Ryle, M. J.; Clifton, I. J.; Hotopp, J. C. D.; Lloyd, J. S.; Burzlaff, N. I.; Baldwin, J. E.; Hausinger, R. P.; Roach, P. L. *Biochemistry* **2002**, *41*, 5185-5192.

- (33) Bollinger, J. M., Jr.; Price, J. C.; Hoffart, L. M.; Barr, E. W.; Krebs, C. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2005**, 4245-4254.
- (34) Farquhar, E. R.; Koehntop, K. D.; Emerson, J. P.; Que, L., Jr. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2005**, 338, 230-239.
- (35) Schenk, J.; Pau, M. Y. M.; Solomon, E. I. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 505-515.
- (36) Price, J. C.; Barr, E. W.; Tirupati, B.; Bollinger, J. M., Jr.; Krebs, C. *Biochemistry* **2003**, 42, 7497-7508.
- (37) Riggs-Gelasco, P. J.; Price, J. C.; Guyer, R. B.; Brehm, J. H.; Barr, E. W.; J. M. Bollinger, J. M., Jr.; Krebs, C. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 8108-8109.
- (38) Proshlyakov, D. A.; Henshaw, T. F.; Monterosso, G. R.; Ryle, M. J.; Hausinger, R. P. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 1022-1023.
- (39) Price, J. C.; Barr, E. W.; Glass, T. E.; Krebs, C.; Bollinger, J. M., Jr. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, 125, 13008-13009.
- (40) (a) Nordlund, P.; Eklund, H. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **1995**, 5, 758-766. (b) Kurtz, D. M. Jr. *J. Biol. Inorg. Chem.* **1997**, 2, 159-167.
- (41) Stenkamp, R. E. *Chem. Rev.* **1994**, 94, 715-726.
- (42) (a) Nordlund, P.; Sjöberg, B.- M.; Eklund, H. *Nature* **1990**, 345, 593-598. (b) J. M. Bollinger, J. M., Jr.; Edmondson, D. E.; Huynh, B. H.; Filley, J.; Norton, J. R.; Stubbe, J. *Science* **1991**, 253, 292-298. (c) Wallar, B. J.; Lipscomb, J. D. *Chem. Rev.* **1996**, 96, 2625-2658.
- (43) (a) Shanklin, J.; Cahoon, E. B. *Annu. Rev. Plant. Physiol. Plant. Mol. Biol.* **1998**, 49, 611-641. (b) Broadwater, J. A.; Ai, J.; Loehr, T. M.; Sanders-Loehr, J.; Fox, B. G. *Biochemistry* **1998**, 37, 14664-14671.
- (44) (a) Newman, L. M.; Wackett, L. P. *Biochemistry* **1995**, 34, 14066-14076. (b) Sazinsky, M. H.; Bard, J.; Di Donato, A.; Lippard, S. J. *J. Biol. Chem.* **2004**, 279, 30600-30610. (c) Sträter, N.; Klabunde, T.; Tucker, P.; Witzel, H.; Krebs, B. *Science* **1995**, 268, 1489-1492. (d) Schlenk, G.; Elliott, T. W.; Leung, E.; Carrington, L. E.; Mitić, N.; Gahan, L. R.; Guddat, L. W. *BMC Struct. Biol.* **2008**, 8, 1-13.
- (45) Hanson, R. S.; Hanson, T. E. *Microbiol. Rev.* **1996**, 60, 439-471.
- (46) (a) Lieberman, R. L.; Rosenzweig, A. C. *Nature* **2005**, 434, 177-182. (b) Martinho, M.; Choi, D. W.; DiSpirito, A. A.; Antholine, W. E.; Semrau, J. D.; Münck, E. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, 129, 15783-15785.
- (47) (a) Merx, M.; Kopp, D. A.; Sazinsky, M. H.; Blazyk, J. L.; Müller, J.; Lippard, S. J. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, 40, 2782-2807. (b) Kopp, D. A.; Lippard, S. J. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2002**, 6, 568-576.

- (48) Rosenzweig, A. C.; Frederick, C. A.; Lippard, S. J.; Nordlund, P. *Nature* **1993**, *366*, 537-543.
- (49) (a) Lund, J.; Dalton H. *Eur. J. Biochem.* **1985**, *147*, 291-296. (b) Kopp, D. A.; Gassner, G. T.; Blazyk, J. L.; Lippard, S. J. *Biochemistry* **2001**, *40*, 14932-14941.
- (50) (a) Green, J.; Dalton, H. *J. Biol. Chem.* **1985**, *260*, 15795-15801. (b) Liu, Y.; Nesheim, J. C.; Lee, S-K.; Lipscomb, J. D. *J. Biol. Chem.* **1995**, *270*, 24662-24665. (c) Zhang, J.; Lipscomb, J. D. *Biochemistry* **2006**, *45*, 1459-1469.
- (51) Rosenzweig, A. C.; Nordlund, P.; Takahara, P. M.; Frederick, C. A.; Lippard, S. J. *Chem. Biol.* **1995**, *2*, 409-418.
- (52) Tolman, W. B.; Liu, S.; Bentsen, J. G.; Lippard, S. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 152-164.
- (53) (a) Froland, W. A.; Andersson, K. K.; Lee, S. K.; Liu, Y.; Lipscomb, J. D. *J. Biol. Chem.* **1992**, *267*, 17588-17597. (b) Duniets, B. D.; Beachy, M. D.; Cao, Y.; Whittington, D. A.; Lippard, S. J.; Friesner, R. A. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 2828-2839. (c) Lee, S-K.; Lipscomb, J. D. *Biochemistry* **1999**, *38*, 4423-4432. (d) Brazeau, B. J.; Lipscomb, J. D. *Biochemistry* **2000**, *39*, 13503-13515.
- (54) (a) Lee, S. K.; Nesheim, J. C.; Lipscomb, J. D. *J. Biol. Chem.* **1993**, *268*, 21569-21577. (b) Liu, K. E.; Valentine, A. M.; Qiu, D.; Edmondson, D. E.; Appelman, E. H.; Spiro, T. G.; Lippard, S. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 4997-4998. (c) Liu, K. E.; Valentine, A. M.; Wang, D. L.; Huynh, B. H.; Edmondson, D. E.; Salifoglou, A.; Lippard, S. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 10174-10185.
- (55) Pour les caractérisations spectroscopiques du composé Q, voir :
 (a) Lee, S.-K.; Fox, B. G.; Froland, W. A.; Lipscomb, J. D.; Münck, E. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 6450-6451. (b) Liu, K. E.; Wang, D.; Huynh, B. H.; Edmondson, D. E.; Salifoglou, A.; Lippard, S. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *116*, 7465-7466. (c) Shu, L.; Nesheim, J. C.; Kauffmann, K.; Münck, E.; Lipscomb, J. D.; Que, L., Jr. *Science* **1997**, *275*, 515-518.
- (56) Pour des complexes bio-inspirés du composé Q de MMOH, voir :
 (a) Dong, Y.; Fujii, H.; Hendrich, M. P.; Leising, R. A.; Pan, G.; Randall, C. R.; Wilkinson, E. C.; Zang, Y.; Que, L., Jr.; Fox, B.G.; Kauffmann, K.; Münck, E. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 2778-2792. (b) Dong, Y.; Kauffmann, K.; Münck, E.; Que, L., Jr. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 11377-11378. (c) Xue, G.; Wang, D.; De Hont, R.; Fiedler, A. T.; Shan, X.; Münck, E.; Que, L., Jr. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2007**, *104*, 20713-20718.
- (57) (a) Higgins, I. J.; Best, D. J.; Hammond, R. C. *Nature* **1980**, *286*, 561-564. (b) Fox, B. G.; Borneman, J. G.; Wackett, L. P.; Lipscomb, J. D. *Biochemistry* **1990**, *29*, 6419-6427. (c) Jin, Y.; Lipscomb, J. D. *J. Biol. Inorg. Chem.* **2001**, *6*, 715-725.
- (58) Que, L. Jr.; Tolman, W. B. *Nature* **2008**, *455*, 333-340.

- (59) (a) Resnick, S. M.; Gibson, D. T. *J. Ind. Microbiol.* **1996**, *17*, 438. (b) Gibson, D. T.; Parales, R. E. *Curr. Opin. Biotechnol.* **2000**, *11*, 236-243. (c) Boyd, D. R.; Sharma, N. D.; Allen, C. C. R. *Curr. Opin. Biotechnol.* **2001**, *12*, 564.
- (60) Costas, M.; Tipton, A. K.; Chen, K.; Jo, D.-H.; Que, L., Jr. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 6722-6723.
- (61) (a) Jacobsen, E. N. In *Catalytic Asymmetric Synthesis*; Ojima, I., Ed.; Wiley-VCH: New York, **1993**; pp 159-202. (b) Katsuki, T. In *Catalytic Asymmetric Synthesis*, 2nd ed.; Ojima, I., Ed.; Wiley-VCH: New York, **2000**; 287-325.
- (62) Costas, M.; Que, L., Jr. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 2179-2181.
- (63) Mas-Ballesté, R.; Costas, M.; van den Berg, T.; Que, L., Jr. *Chem. Eur. J.* **2006**, *12*, 7489-7500.
- (64) Chen, M. S.; White, M. C. *Science*, **2007**, *318*, 783-787.
- (65) Suzuki, K.; Oldenburg, P. D.; Que, L., Jr. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2008**, *47*, 1887-1889.
- (66) (a) Fontecave, M.; Ménage, S.; Duboc-Toia, C. *Coord. Chem. Rev.* 1998, *180*, 1555-1572. (b) Kodera, M.; Itoh, M.; Kano, K.; Funabiki, T.; Reglier, M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 7104-7106. (c) Wang, D.; Farquhar, E. R.; Stubna, A.; Münck, E.; Que, L., Jr. *Nature Chem.* **2009**, *1*, 145-150. (d) Xue, G.; De Hont, R.; Münck, E.; Que, L., Jr. *Nature Chem.* **2010**, *2*, 1-6.
- (67) Dubois, G.; Murphy, A.; Stack, T. D. P. *Org. Lett.* **2003**, *5*, 2469-2472.
- (68) Marchi-Delapierre, C.; Jorge-Robin, A.; Thibon, A.; Ménage, S. *Chem. Commun.* **2007**, 1166-1168.
- (69) Yeung, H.-L.; Sham, K.-C.; Tsang, C.-S.; Lau, T.-C.; Kwong, H.-L. *Chem. Commun.* **2008**, 3801-3803.
- (70) White, M. C.; Doyle, A. G.; Jacobsen, E. N. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 7194-7195.
- (71) Mas-Ballesté, R.; Que, L., Jr. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 15964-15972.
- (72) Labinger, J. A.; Bercaw, J. E. *Nature*, **2002**, *417*, 507-514.
- (73) (a) Groves, J. T.; Viski, P. *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 8537-8538. (b) de Visser, S. P.; Tahsini, L.; Nam, W. *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 5577-5587.
- (74) (a) Leising, R. A.; Kim, J.; Pérez, M. A.; Que, L., Jr. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 9524-9530. (b) Wang, D.; Farquhar, E. R.; Stubna, A.; Münck, E.; Que, L., Jr. *Nat. Chem.* **2009**, *1*, 145-150.
- (75) (a) Mimoun, H.; Saussine, L.; Daire, E.; Postel, M.; Fischer, J.; Weisse, R. *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, *105*, 3101-3110. (b) Mello, R.; Fiorentino, M.; Fusco, C.; Curci, R.

- J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 6749-6757. (c) Schneider, H.-J.; Muller, W. *J. Org. Chem.* **1985**, *50*, 4609-4615.
- (76) Kim, C.; Chen, K.; Kim, J.; Que, L., Jr. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 5964-5965.
- (77) Chen, K.; Que, L., Jr. *Chem. Commun.* **1999**, 1375-1376.
- (78) (a) Bernadou, J.; Fabiance, A.-S.; Robert, A.; Meunier, B. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 9375-9376. (b) Bernadou, J.; Meunier, B. *Chem. Commun.* **1998**, 2167-2173.
- (79) (a) Chen, K.; Que, L., Jr. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 6327-6337. (b) Chen, K.; Costas, M.; Kim, J.; Tipton, A. K.; Que, L., Jr. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 3026-3035.
- (80) Gómez, L.; Garcia-Bosch, I.; Company, A.; Benet-Buchholz, J.; Polo, A.; Sala, X.; Ribas, X.; Costas, M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 1-5.
- (81) Vermeulen, N. A.; Chen, M. S.; White, M. C. *Tetrahedron* **2009**, *65*, 3078-3084.
- (82) Mekmouche, Y.; Duboc-Toia, C.; Ménage, S.; Lambeaux, C.; Fontecave, M. *J. Mol. Catal. A*, **2000**, *156*, 85-89.
- (83) Pour connaître plusieurs utilisations de sulfoxydes chiraux, voir :
(a) Carreño, M. C. *Chem. Rev.* **1995**, *95*, 1717-1760. (b) Rouhi, A. M. *Chem. Eng. News* **2003**, *81*, 56-61. (c) Fernández, I.; Khiar, N. *Chem. Rev.* **2003**, *103*, 3651-3705.
- (84) (a) Saito, B.; Katsuki, T. *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 3873-3876. (b) Yamaguchi, T.; Matsumoto, K.; Saito, B.; Katsuki, T. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2007**, *46*, 4729-4731. (c) Bolm, C.; Bienewald, F. *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1995**, *34*, 2640-2642. (d) Schoumacker, S.; Hamelin, O.; Pécaut, J.; Fontecave, M. *Inorg. Chem.* **2003**, *42*, 8110-8116.
- (85) Legros, J.; Bolm, C. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2003**, *42*, 5487-5489.
- (86) Bryliakov, K. P.; Talsii, E. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2004**, *43*, 5228-5230.
- (87) Egami, H.; Katsuki, T. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 8940-8941.
- (88) Mekmouche, Y.; Duboc-Toia, C.; Ménage, S.; Lambeaux, C.; Fontecave, M. *J. Mol. Catal. A*, **2000**, *156*, 85-89.
- (89) (a) Collins, T. J. *Acc. Chem. Res.* **2002**, *35*, 782-790. (b) Sheldon, R. A., Arends, I. & Hanefeld, U. *Green Chemistry and Catalysis* (Wiley-VCH, **2007**).
- (90) Anastas, P. T.; Kirchhoff, M. M. *Acc. Chem. Res.* **2002**, *35*, 686-694.
- (91) Pour des revues sur les métalloenzymes artificielles, voir :
(a) Qi, D.; Tann, C.-M.; Haring, D.; Distefano, M. D. *Chem. Rev.* **2001**, *101*, 3081-3111. (b) Lu, Y.; Berry, S. M.; Pfister, T. D. *Chem. Rev.* **2001**, *101*, 3047-3080. (c) Thomas, C. M.; Ward, T. R. *Chem. Soc. Rev.* **2005**, *34*, 337-346. (d) Steinreiber, J.;

- Ward, T. R. *Coord. Chem. Rev.* **2008**, 252, 751-766. (e) Lu, Y.; Yeung, N.; Sieracki, N.; Marshall, N. M. *Nature* **2009**, 460, 855-862. (f) Heinisch, T.; Ward, T. R. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2009**, 14, 1-16.
- (92) Davies, C. L.; Dux, E. L.; Duhme-Klair, A.-K. *Dalton Trans.* **2009**, 10141-10154.
- (93) Pordea, A.; Ward, T. R. *Chem. Commun.* **2008**, 4239-4249.
- (94) Wilson, M. E.; Whitesides, G. M. *J. Am. Chem. Soc.* **1978**, 100, 306-307.
- (95) Srinivasan, K.; Michaud, P.; Kochi, J. K. *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, 108, 2309-2320.
- (96) Reetz, M. T.; Rentzsch, M.; Pletsch, A.; Maywald, M.; Maiwald, P.; Peyralans, J. J.-P.; Maichele, A.; Fu, Y.; Jiao, N.; Hollmann, F.; Mondière, R.; Taglieber, A. *Tetrahedron* **2007**, 63, 6404-6414.
- (97) Reetz, M. T.; Rentzsch, M.; Pletsch, A.; Maywald, M. *Chimia* **2002**, 56, 721-723.
- (98) Carey, J. R.; Ma, S. K.; Pfister, T. D.; Garner, D. K.; Kim, H. K.; Abramite, J. A.; Wang, Z.; Guo, Z.; Lu, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 10812-10813.
- (99) Ohashi, M.; Koshiyama, T.; Ueno, T.; Yanase, M.; Fujii, H.; Watanabe, Y. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, 42, 1005-1008.
- (100) Pordea, A.; Creus, M.; Panek, J.; Duboc, C.; Mathis, D.; Novic, M.; Ward, T. M. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, 130, 8085-8088.
- (101) Thomas, C. M.; Letondor, C.; Humbert, N.; Ward, T. R. *J. Organomet. Chem.* **2005**, 690, 4488-4491.
- (102) Rousselot-Pailley, P.; Bochot, C.; Marchi-Delapierre, C.; Jorge-Robin, A.; Martin, L.; Fontecilla-Camps, J. C.; Cavazza, C.; Ménage, S. *ChemBioChem* **2009**, 10, 545-552.
- (103) (a) Fetzner, S. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2002**, 60, 243-257. (b) Widboom, P. F.; Fielding, E. N.; Liu, Y.; Bruner, S. D. *Nature* **2007**, 447, 342-345. (c) Grocholski, T.; Koskiniemi, H.; Lindqvist, Y.; Mäntsälä, P.; Niemi, J.; Schneider, G. *Biochemistry* **2010**, 49, 934-944.
- (104) (a) Röthlisberger, D.; Khersonsky, O.; Wollacott, A. M.; Jiang, L.; DeChancie, J.; Betker, J.; Gallaher, J. L.; Althoff, E. A.; Zanghellini, A.; Dym, O.; Albeck, S.; Houk, K. N.; Tawfik, D. S.; Baker, D. *Nature* **2008**, 453, 190-196. (b) Nanda, V.; Koder, R. L. *Nature Chemistry* **2010**, 2, 15-24.
- (105) (a) Lutz, S.; Bornscheuer, U. T. *Protein Engineering Handbook*; Wiley-VCH: Weinheim, Germany, 2009; Vols. 1 and 2. (b) Turner, N. J. *Nature Chem. Biol.* **2009**, 5, 567-573.

Chapitre II. Description du projet

Dans le cadre de la catalyse asymétrique d'oxydation de molécules organiques, telles que les alcanes, les alcènes et les thioéthers, il n'existe que très peu de métalloenzymes artificielles préparées selon le mode de reconnaissance supramoléculaire, les autres stratégies d'introduction d'un complexe inorganique au sein d'une protéine étant les modes covalent et datif (Chapitre I, Partie C).

L'originalité de notre projet consiste en l'élaboration d'oxygénases artificielles dans le but d'effectuer ces transformations en utilisant la stratégie d'insertion non covalente d'un complexe non hémunique de fer au sein d'une protéine. Une telle approche permet de dissocier l'activité du catalyseur de la sélectivité apportée par la protéine, et d'avoir une modularité au niveau des réactions en changeant de complexes métalliques sans altération du partenaire protéique. En effet, les oxygénases artificielles peuvent être définies comme étant des hybrides bio-inorganiques doués de propriétés catalytiques d'oxygénation dont la nature est dictée par le complexe inorganique intégré, avec une régio-, chimio- et énantiosélectivité gouvernée par la charpente protéique.

Actuellement, pour espérer l'application d'un catalyseur dans le domaine industriel, il faut que celui-ci soit supporté de manière à assurer sa stabilité et à pouvoir le recycler aisément. Dans notre approche, la protéine peut être considérée comme un tel support permettant de valoriser des complexes inorganiques ayant une activité en oxydation d'alcanes, d'alcènes ou de thioéthers. En effet, l'édifice protéique offre au complexe métallique inséré un environnement hydrophobe protecteur empêchant son inactivation par oxydation du ligand ou par des voies de décompositions bimoléculaires au niveau du métal conduisant à des dimères oxo. De plus, la protéine permet de travailler en phase aqueuse et de séparer le catalyseur des produits d'oxydation par extraction, l'hybride restant en phase aqueuse. En outre, cette approche bio-inspirée s'accorde avec les principes de la "chimie verte" qui préconise, entre autres, l'utilisation de méthodes catalytiques de préférence à celles stoechiométriques, de travailler dans un solvant non polluant et de limiter la production de déchets par recyclage du catalyseur. Il est à noter que la protéine est biodégradable et ne constitue donc pas un déchet nuisible pour l'environnement.

Le choix de la protéine et du catalyseur inorganique constitue la clé de voûte de ce projet ; en effet, il est indispensable que la protéine soit globulaire et munie d'une cavité

hydrophobe assez large pour pouvoir accueillir le complexe métallique, l'oxydant et le substrat. De plus, sa surexpression doit être relativement facile, sa structure tridimensionnelle bien déterminée et sa stabilité avérée après mutation.

Quant au complexe métallique, il doit avoir l'aptitude d'activer des oxydants doux et peu toxiques tels que le peroxyde d'hydrogène, voire l'oxygène moléculaire, en favorisant une chimie centrée sur le métal. Le ligand doit posséder un motif de reconnaissance pour la protéine dans laquelle nous voulons l'introduire, ce qui implique une connaissance de la nature des résidus présents dans la cavité de ladite protéine qui seraient susceptibles d'interagir avec le complexe.

Les complexes de fer choisis pour ce projet possèdent des ligands non hémiques qui sont des analogues des ligands **BPMEN**¹ et **BPMC**N,^{2b} ceux-ci étant constitués de deux noyaux pyridine et deux amines tertiaires (environnement de type N₂Py₂). Les études menées sur les complexes de fer(II) possédant ces ligands ont montré leur efficacité et leur sélectivité en tant que catalyseurs d'oxydation d'alcanes et d'alcènes (Figure II-1).²

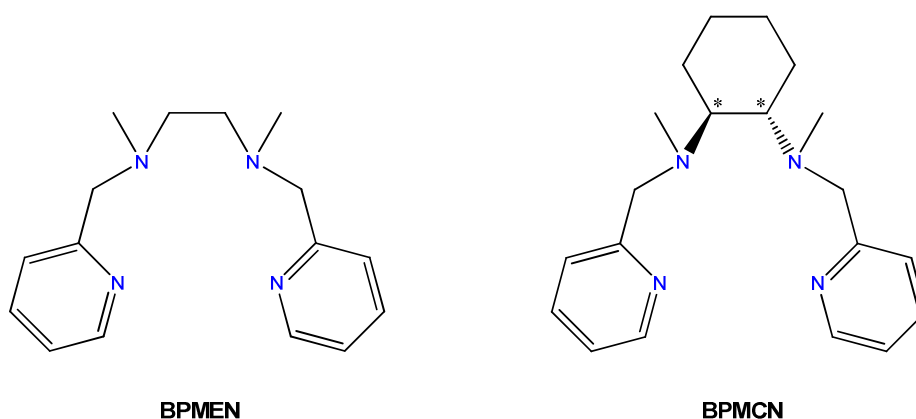


Figure II-1. Ligands non hémiques tétra-azotés **BPMEN** et **BPMC**N ayant deux groupements pyridine et deux amines tertiaires.

Notons que le ligand **BPMC**N possède deux centres stéréogènes (représentés par un astérisque sur la Figure II-1), et qu'il est donc chiral. Ainsi, sera-t-il intéressant d'apprécier l'influence de la coque protéique sur les complexes possédant ce type de ligands en terme d'énantiosélectivité.

Les différents travaux en catalyse d'oxydation utilisant ces complexes ont mis en avant la propriété de l'environnement N₂Py₂ à favoriser l'intervention d'un intermédiaire fer-oxo à haut degré d'oxydation, l'espèce-clé dans l'étape d'insertion d'un atome d'oxygène au sein d'une liaison C-H ou C=C.²

Le choix du métal s'est porté sur le fer car celui-ci est l'un des éléments les plus abondants sur Terre, d'où sa disponibilité et son faible coût. Qui plus est, le fer est un métal non toxique étant donné sa présence dans de nombreuses métalloprotéines et métalloenzymes des organismes vivants.³

Pour l'élaboration d'oxygénases artificielles, nous avons opté pour deux protéines : la protéine bactérienne NikA et l'albumine sérique humaine (HSA).

➤ *NikA*

NikA est une protéine de 56 kDa, constituant la composante périplasmique du système de transport de l'ion Ni^{2+} dans *E. coli*. Elle est formée de deux lobes entourant une cavité assez large correspondant au site de fixation de l'ion Ni^{2+} (Figure II-2).⁴

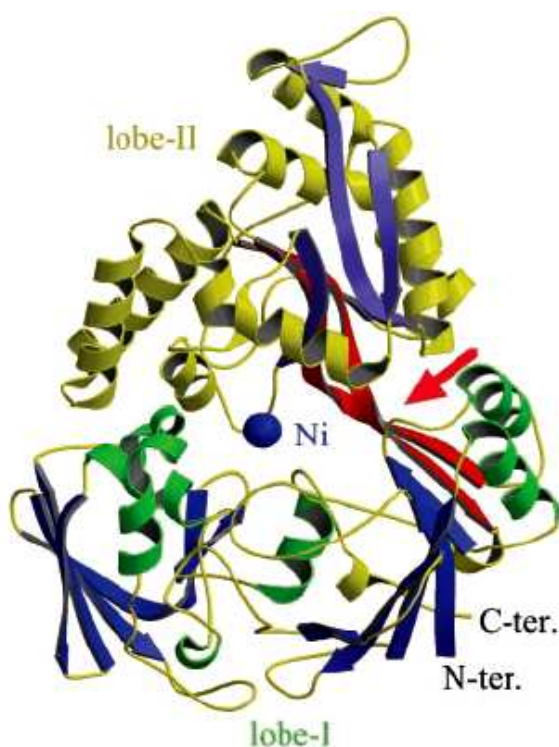


Figure II-2. Structure de NikA avec les deux lobes colorés différemment. Pour le lobe I, les hélices α sont colorées en vert et les brins β en bleu. Pour le lobe II, les hélices α sont colorées en jaune et les brins β en mauve. L'ion Ni^{2+} est coloré en bleu.⁴

Le mode opératoire de l'expression et de la purification de NikA est décrit dans la Partie expérimentale, Partie C.

En 2005, Fontecilla-Camps et coll. ont découvert que NikA est capable de reconnaître le complexe $\text{Fe}^{\text{III}}(\text{EDTA})$ au niveau de son site de fixation de l'ion Ni^{2+} , ce qui induit un changement conformationnel de la protéine qui, telle une pince, se referme sur le complexe, assurant ainsi son maintien au sein de la cavité. Des études cristallographiques et spectroscopiques ont montré le positionnement du complexe au sein de la protéine, ainsi que les acides aminés avec lesquels il interagit (Figure II-3).⁵

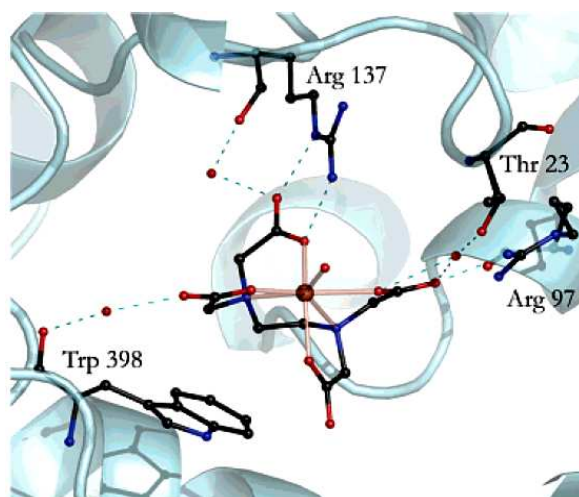


Figure II-3. Le complexe $\text{Fe}^{\text{III}}(\text{EDTA})$ dans NikA interagissant par des liaisons hydrogène avec les résidus Arg97, Arg137, Thr23 et une molécule d'eau interagissant avec l'oxygène d'une liaison peptidique proche de Trp398.⁵

La connaissance des liaisons supramoléculaires qui s'établissent entre le complexe $\text{Fe}^{\text{III}}(\text{EDTA})$ et NikA met en exergue l'importance des groupements carboxyle pour la reconnaissance avec la protéine et la stabilisation du complexe en son sein. Cette considération nous amène à insérer au moins un groupement carboxyle sur les ligands lors de la synthèse des complexes (Figure II-4).

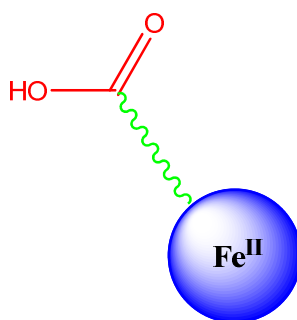


Figure II-4. Type de complexes développés pour l'incorporation dans NikA. Le groupement carboxyle (rouge) est relié au site de complexation (bleu) via un bras espaceur (vert).

➤ HSA

HSA est une protéine globulaire de 66 kDa dont la forme évoque celle d'un cœur, elle contient trois domaines hélicoïdaux (I-III), eux-mêmes constitué de deux sous-domaines (A et B), entourant une grande et profonde cavité (Figure II-5).⁶

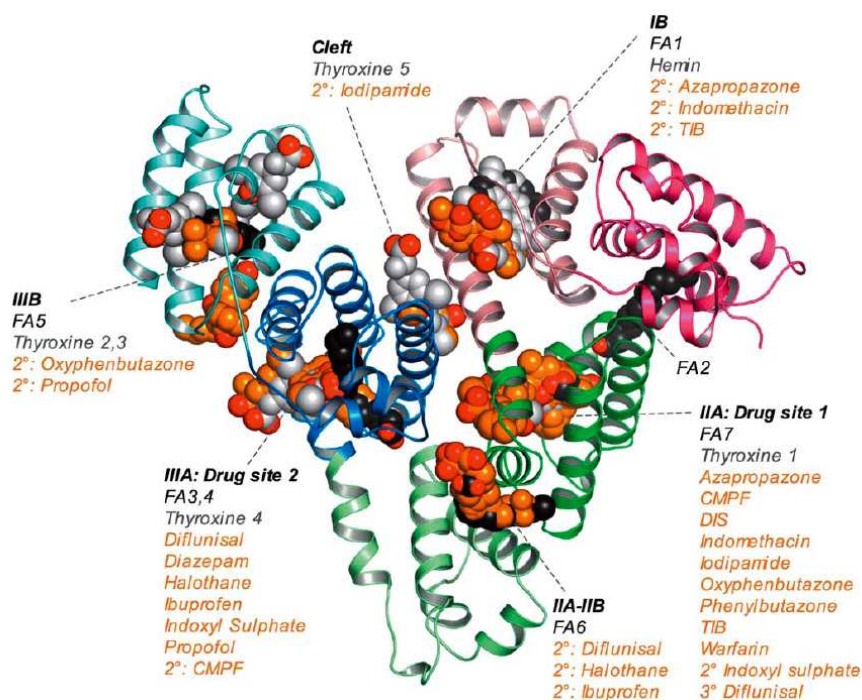


Figure II-5. Structure de HSA avec les différents sites de fixation pour diverses molécules, répertoriées en orange sous chaque site.⁶

Il s'agit de la protéine la plus abondante dans le plasma sanguin ($\sim 600 \mu\text{M}$) où elle a un rôle de transporteur pour un grand nombre de molécules hydrophobes comprenant, entres autres, des hormones liposolubles, des acides gras, la bilirubine, l'hémine, mais aussi des molécules exogènes incluant de nombreux principes actifs de médicaments et d'anesthésiques tels que le diazépam, l'halothane, le propofol, la phénylbutazone et bien d'autres encore. Il est à noter qu'elle possède plusieurs sites de fixation pour une molécule donnée. Par exemple le propofol peut se lier au domaine IIIA et IIB (Figure II-5).

La grande diversité de molécules pouvant se lier à différents domaines de HSA est pour nous une véritable opportunité pour l'élaboration de métalloenzymes artificielles. Pour ce faire, nous avons décidé de recourir à la stratégie du "Cheval de Troie" en choisissant comme ancres l'ibuprofène et le triiodobenzoate (Figure II-6).

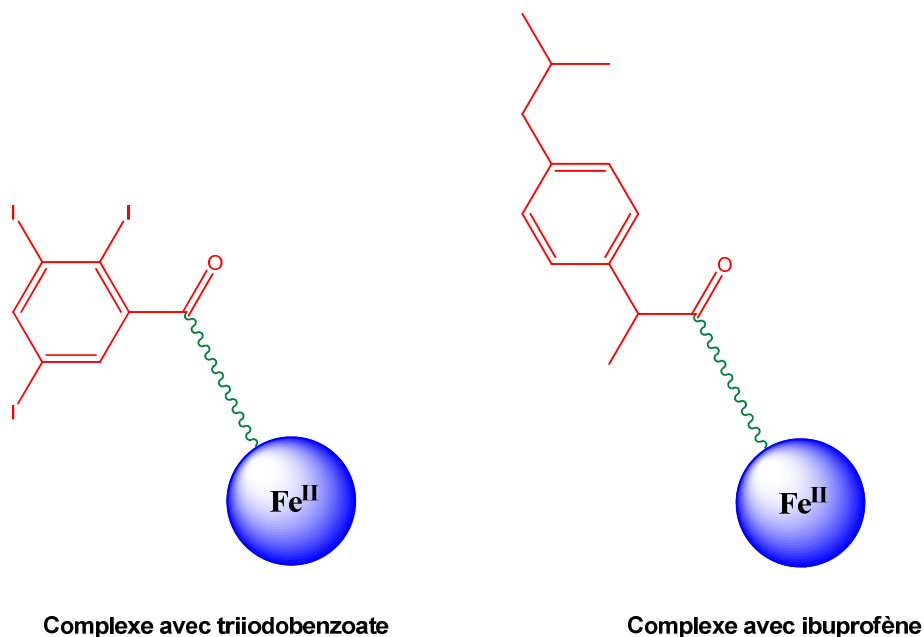


Figure II-6. Type de complexes que nous avons développés pour l’incorporation dans HSA.
Les ancres (rouge) sont reliées au site de complexation (bleu) par un bras espaceur (vert).

Le triiodobenzoate (TIB) et l’ibuprofène ont été choisis comme ancres, sachant que ces molécules présentent l’avantage de pouvoir être modifiées chimiquement de façon assez simple (estérification ou amidation) tout en conservant les fonctions nécessaires à la reconnaissance avec la protéine. En outre, chacune de ces deux molécules n’a que deux sites de fixation au sein de HSA contrairement à d’autres molécules telle la thyroxine qui en possède cinq ou le diflunisal qui en possède trois (Figure II-5).

Le TIB peut se fixer au niveau des domaines IIA et IB, mais avec une affinité moindre pour ce dernier. Quant à l’ibuprofène, il peut se fixer au niveau des domaines IIIA et IIA-IIB, le domaine IIIA étant le site de reconnaissance avec lequel il a la meilleure affinité. Cette différence d’affinité entre les deux domaines de fixation pour le TIB et l’ibuprofène nous permet d’envisager de ne mettre qu’un seul complexe par protéine.

Contrairement aux travaux publiés par Ménage et coll. en 2009, où un complexe Mn(salen) est introduit dans HSA de manière non dirigée,⁷ la stratégie du “Cheval de Troie” utilisant des motifs de reconnaissance nous permet de réaliser une incorporation dirigée des complexes, ainsi pouvons-nous prévoir leur localisation au sein de la protéine.

Pour ce qui est du bras espaceur, celui-ci devra posséder trois atomes de carbone pour apporter une flexibilité suffisante aux ligands afin de favoriser l’approche du centre métallique vers le substrat à oxyder. Par ailleurs, des études de docking réalisées par P. Amara du LCCP/IBS (LCCP = Laboratoire de Cristallographie et de Cristallogénèse des Protéines,

IBS = Institut de Biologie Structurale), ont montré que ce nombre d'atomes de carbone induit une longueur pour le bras espaceur propice à l'incorporation du complexe au sein de la protéine. De plus, cette longueur est suffisante pour distancer l'ancre de la partie complexante évitant ainsi un appauvrissement de la densité électronique sur l'atome d'azote par effet électroattracteur de la fonction ester ou amide, ce qui serait défavorable à la complexation de l'ion ferreux.

L'activité catalytique et la sélectivité des hybrides seront appréciées au niveau des réactions d'époxydation d'alcènes et de sulfoxydation de thioéthers, réactions les plus connues et les plus utilisées en catalyse homogène d'oxygénation (Schéma II-1).

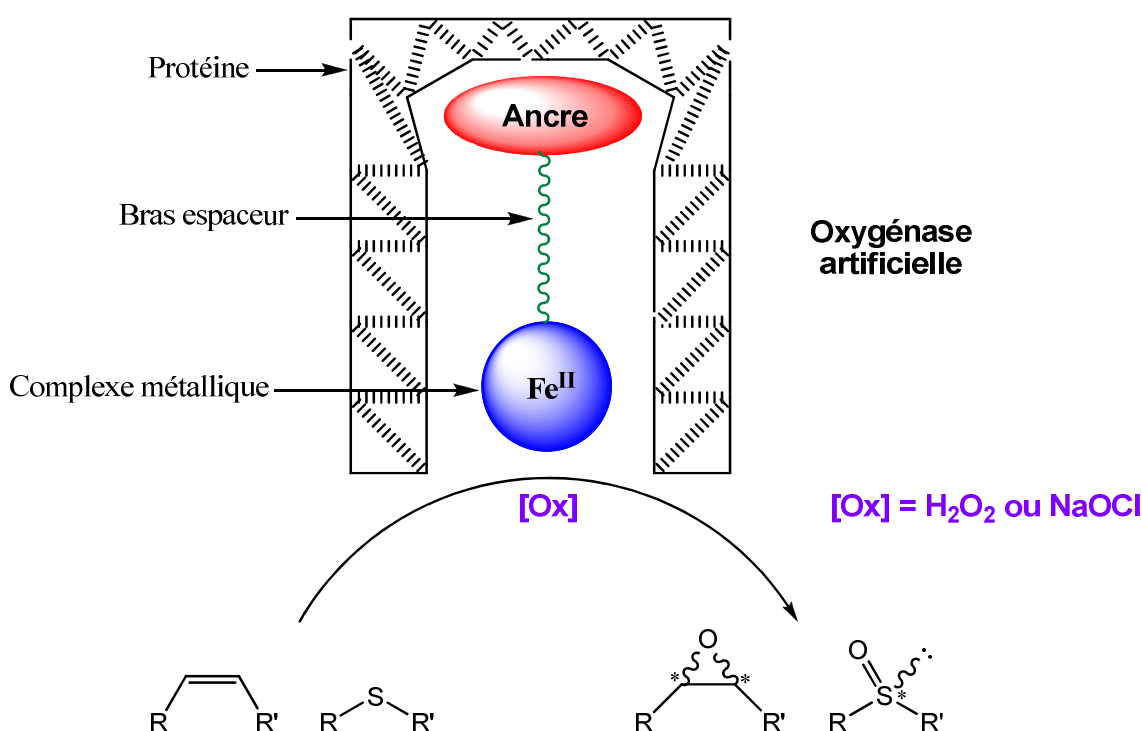


Schéma II-1. Tests des oxygénases artificielles élaborées suivant l'insertion supramoléculaire en catalyse d'époxydation d'alcènes et de sulfoxydation de thioéthers.

Nous utiliserons comme oxydants le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) pour sa très faible toxicité et pour son efficacité en catalyse d'oxydation d'alcènes et de thioéthers,⁸ ainsi que l'hypochlorite de sodium (NaOCl) du fait de son efficacité avérée en catalyse de sulfoxydation suite aux travaux du laboratoire.⁷

Il est à noter que les oxygénases artificielles que nous voulons préparer ne sont pas des mimes des oxygénases naturelles à centre de fer non hémique. En effet, dans ces dernières,

le centre métallique est directement coordonné par des acides aminés de la protéine, comme c'est le cas pour la triade faciale 2-His-1-carboxylate, où l'ion fer(II) est lié à la protéine par deux histidines et un aspartate ou un glutamate.⁹ Dans notre cas, il n'y a aucune interaction entre les résidus de la protéine et le fer, mais au niveau du ligand du complexe.

De ces travaux émanent deux objectifs, d'une part la compréhension au niveau moléculaire de l'influence de la seconde sphère de coordination sur l'activité du complexe métallique et sur la chimio-, régio- et énantiosélectivité de la réaction, d'autre part, la mise au point de nouveaux systèmes catalytiques performants, sélectifs et stables, tout en étant respectueux de l'environnement.

Références :

- (1) Toftlund, H.; Pedersen, E.; Yde-Andersen, S. *Acta Chem. Scand. A* **1984**, 38, 693-697.
- (2) (a) Chen, K.; Que, L., Jr. *Chem. Commun.* **1999**, 1375-1376. (b) Costas, M.; Tipton, A. K.; Chen, K.; Jo, D.-H.; Que, L., Jr. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, 123, 6722-6723. (c) Chen, K.; Costas, M.; Kim, J.; Tipton, A. K.; Que, L., Jr. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124, 3026-3035 (d) Mas-Ballesté, R.; Que, L., Jr. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, 129, 15964-15972.
- (3) Bolm, C.; Legros, J.; Le Paih, J.; Zani, L. *Chem. Rev.* **2004**, 104, 6217-6254.
- (4) Heddle, J.; Scott, D. J.; Unzai, S.; Park, S.-Y.; Tame, J. R. H. *J. Biol. Chem.* **2003**, 278, 50322-50329.
- (5) Cherrier, M. V.; Martin, L.; Cavazza, C.; Jacquamet, L.; Lemaire, D.; Gaillard, J.; Fontecilla-Camps, J. C. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 10075-10082.
- (6) Ghuman, J.; Zunszain, P. A.; Petitpas, I.; Bhattacharya, A. A.; Otagiri, M.; Curry, S. *J. Mol. Biol.* **2005**, 353, 38-52.
- (7) Rousselot-Pailley, P.; Bochot, C.; Marchi-Delapierre, C.; Jorge-Robin, A.; Martin, L.; Fontecilla-Camps, J. C.; Cavazza, C.; Ménage, S. *ChemBioChem* **2009**, 10, 545-552.
- (8) Pour la catalyse d'oxydations avec le peroxyde d'hydrogène, voir :
(a) Jones, C. W. *Applications of Hydrogen Peroxide and Derivatives*; MPG Books Ltd.: Cornwall, U.K., **1999**. (b) Lane, B. S.; Burgess, K. *Chem. Rev.* **2003**, 103, 2457-2473. (c) Noyori, R.; Aoki, M.; Sato, K. *Chem. Commun.* **2003**, 1977-1986.
- (9) (a) Que, L., Jr. *Nat. Struct. Biol.* **2000**, 7, 182-184. (b) Kovaleva, E. G.; Lipscomb, J. D. *Nat. Chem. Biol.* **2008**, 4, 186-193.

Chapitre III. Synthèse, caractérisation et activité des complexes

A. Les complexes destinés à être insérés dans NikA

I- Préparation et caractérisation des complexes

La compétence en cristallographie des membres du Laboratoire de Cristallographie et Cristallogénèse des Protéines (LCCP) avec lesquels notre équipe collabore, nous a permis de connaître la manière dont le ligand du complexe $\text{Fe}^{\text{III}}(\text{EDTA})$ interagit avec la protéine NikA.¹ Comme nous l'avons vu au Chapitre II, ce sont les groupements carboxyle qui font des liaisons hydrogène avec deux résidus arginine (Arg97 et Arg137), un résidu thréonine (Thr23) et une molécule d'eau elle-même interagissant avec l'oxygène provenant du carbonyle d'une liaison peptidique se trouvant au voisinage d'un résidu tryptophane (Trp398).

En conséquence, nous avons synthétisé des ligands contenant un ou deux groupements carboxyle avec un motif éthylènediamine ou cyclohexanediamine pour avoir une structure proche de celle de l'EDTA pour faciliter l'incorporation des complexes de fer correspondants au sein de NikA. En outre, ils proviennent de la famille des ligands N_2Py_2 (deux amines tertiaires et deux pyridines) dont les deux prototypes sont les ligands **BPMEN** et **BPMCN** (Figure III-1).

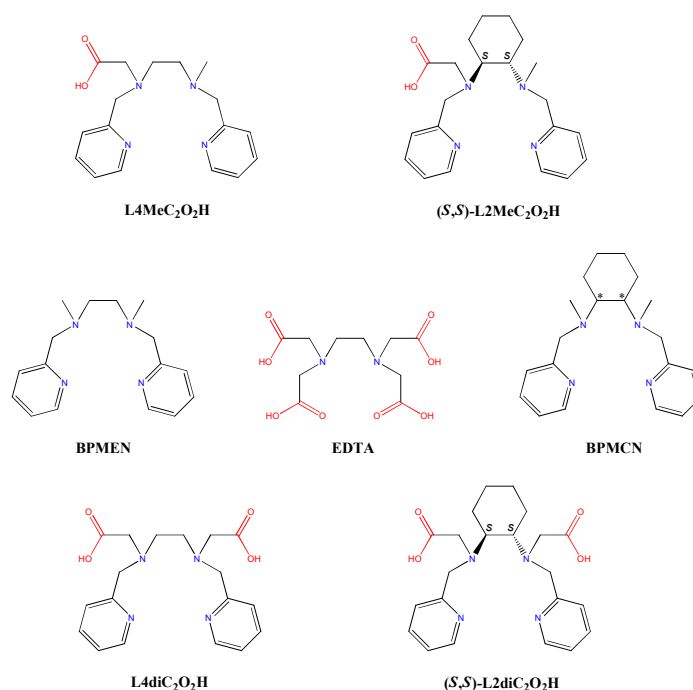


Figure III-1. Structure des ligands utilisés pour l'insertion dans NikA en comparaison de celle des ligands **EDTA**, **BPMEN** et **BPMCN**. Les groupements carboxyle sont représentés en rouge et les atomes d'azote du site de complexation en bleu.

Les ligands possédant un site de coordination de type N_2Py_2 se sont révélés favoriser les intermédiaires de type métal-oxo à haut degré d'oxydation, évitant ainsi d'avoir des produits d'oxydation secondaires provenant d'une chimie radicalaire non sélective.²

Outre le motif N_2Py_2 , les ligands ciblés possèdent un ou deux groupements carboxyle pouvant mener à des coordinations penta- et hexadentate avec, toutefois, le souhait que ces groupements ne se lient que faiblement au centre métallique de manière à ne pas altérer la réactivité des complexes $[Fe(N_2Py_2)]$.

Pour ce qui est des ligands possédant le motif cyclohexanediamine, à savoir **L2MeC₂O₂H** et **L2diC₂O₂H**, je n'ai utilisé que ceux ayant les deux centres stéréogènes de configuration *S,S*. Aussi, dans cette partie, le détail stéréochimique relatif à ces ligands n'apparaîtra pas, sauf cas mentionné, par souci de simplification d'écriture.

Trois types de complexes de fer ont été synthétisés : $LFe^{II}(ClO_4)_2$, $LFe^{II}Cl_2$ et $LFe^{III}Cl_3$. L'objectif de cette variabilité dans la source de fer et dans le degré d'oxydation de celui-ci est de déterminer les meilleures conditions d'incorporation au sein de NikA vis-à-vis de la stabilité des complexes en phase aqueuse, ainsi que des problèmes de précipitation dans le milieu de cristallisation. Par ailleurs, l'utilisation d'ions chlorure garantit la mononucléarité des complexes de fer.

I-1. Synthèse des ligands

✓ Préparation des ligands **L4diNH** et **L2diNH**

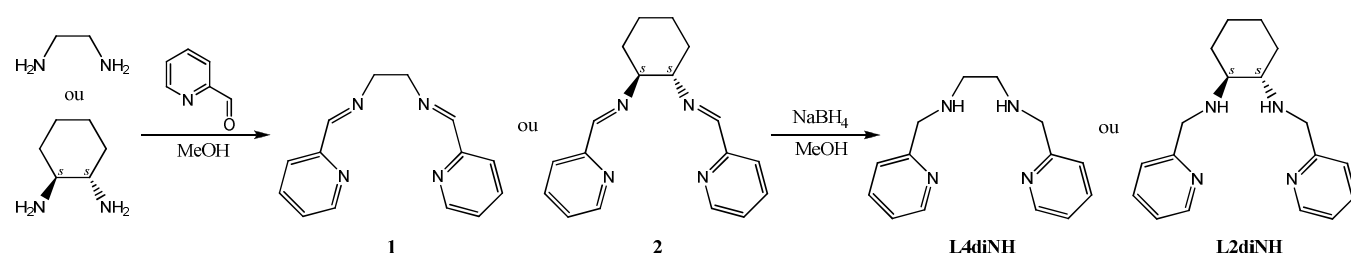


Schéma III-1. Voie de synthèse des ligands **L4diNH** et **L2diNH**.

La première étape de la synthèse de **L4diNH** et **L2diNH** consiste en la condensation de l'éthylène diamine (pour **L4diNH**) ou de la cyclohexane diamine (pour **L2diNH**) sur deux molécules de pyridine-2-carboxaldéhyde. Les imines qui en résultent sont réduites avec du tétraborohydrure de sodium pour conduire aux ligands **L4diNH** et **L2diNH** avec des rendements de 35% et 85%, respectivement (Schéma III-1).

✓ **Monométhylation des ligands *L4diNH* et *L2diNH***

La monométhylation est indispensable pour laisser une amine secondaire libre sur laquelle un groupement carboxyle sera greffé afin d'assurer la reconnaissance avec NikA (Schéma III-2).

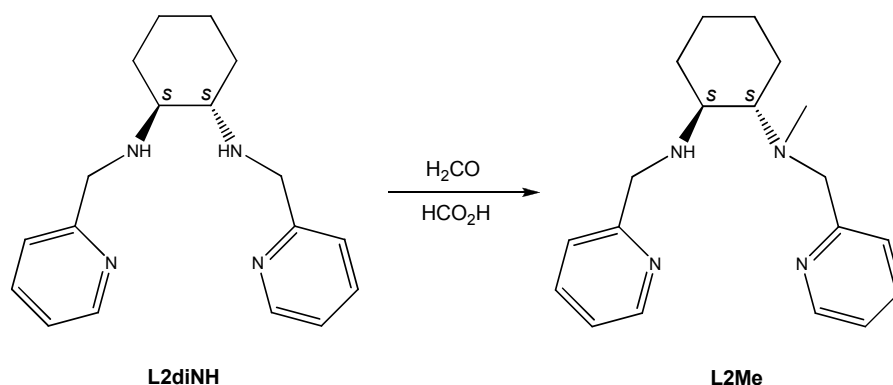


Schéma III-2. Monométhylation du ligand **L2diNH**.

La monométhylation du ligand **L2diNH** se fait en une étape selon la réaction d'Eschweiler-Clarke en employant du formaldéhyde et de l'acide formique comme solvant (Schéma III-2). La réaction fournit 80% de composé monométhylé et 20% de composé diméthylé. Après séparation des deux espèces par chromatographie sur colonne de gel d'alumine, le ligand **L2Me** est obtenu sous la forme d'une huile orangée avec un rendement de 86%.

Quant au ligand **L4diNH**, la monométhylation par la réaction d'Eschweiler-Clarke n'a pas été possible du fait que les deux amines secondaires sont peu encombrées et symétriques. Ainsi, deux autres méthodes ont été testées (Schéma III-3).

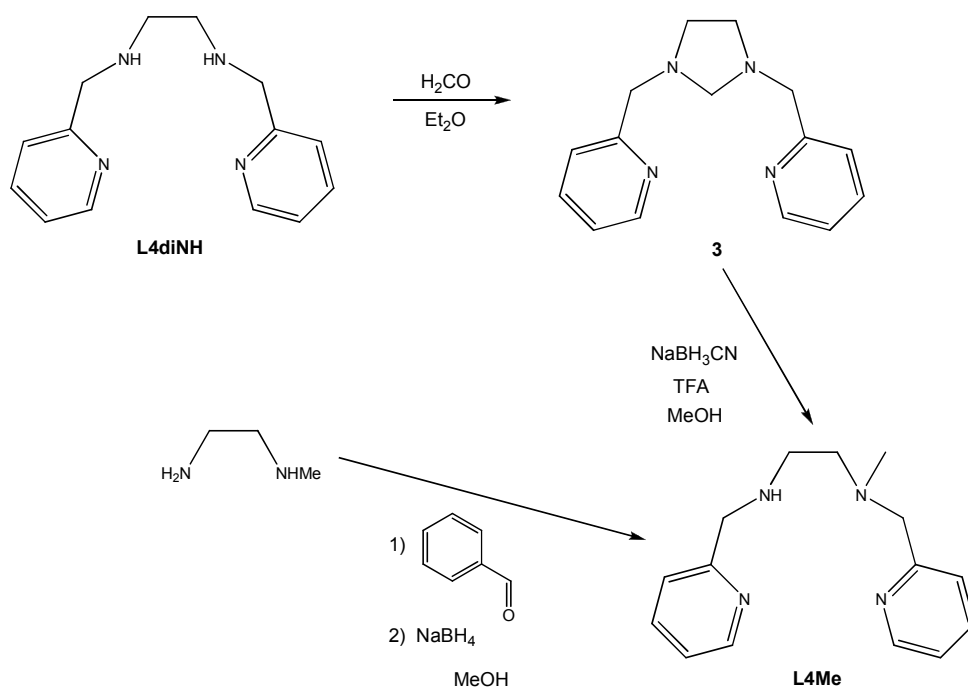


Schéma III-3. Les deux stratégies utilisées pour la monométhylation du ligand **L4diNH**.

Une des stratégies consiste à réaliser la condensation de la *N*-méthyléthylène-1,2-diamine sur deux molécules de pyridine-2-carboxaldéhyde donnant un intermédiaire iminium qui est réduit par du tétraborohydrure de sodium pour conduire au ligand **L4Me**. Cette méthode ne nous a fourni qu'un rendement de 21% après purification du ligand monométhylé sur colonne de gel de silice.

L'autre stratégie a été décrite par Banse et coll. ainsi que McKenzie et coll.^{3,4} La première étape de cette voie correspond à la condensation des deux amines secondaires de **L4diNH** avec une molécule de formaldéhyde pour former le composé **3** possédant un motif imidazolidine qui, après réaction avec du cyanoborohydrure de sodium dans le méthanol, aboutit au ligand monométhylé **L4Me**. Le rôle de l'acide trifluoroacétique (TFA) est de fournir le proton nécessaire, sans être trop acide, pour éviter la décomposition du cyanoborohydrure de sodium requis pour la réaction. Cette méthode nous a permis l'obtention de **L4Me** avec un rendement de 83% sans purification.

✓ *Fonctionnalisation des amines par les groupements carboxyle*

- *Le ligand **L4MeC₂O₂H***

Pour l'insertion d'un groupement carboxyle au niveau du ligand **L4Me**, deux stratégies ont été menées comme l'illustre le Schéma III-4.

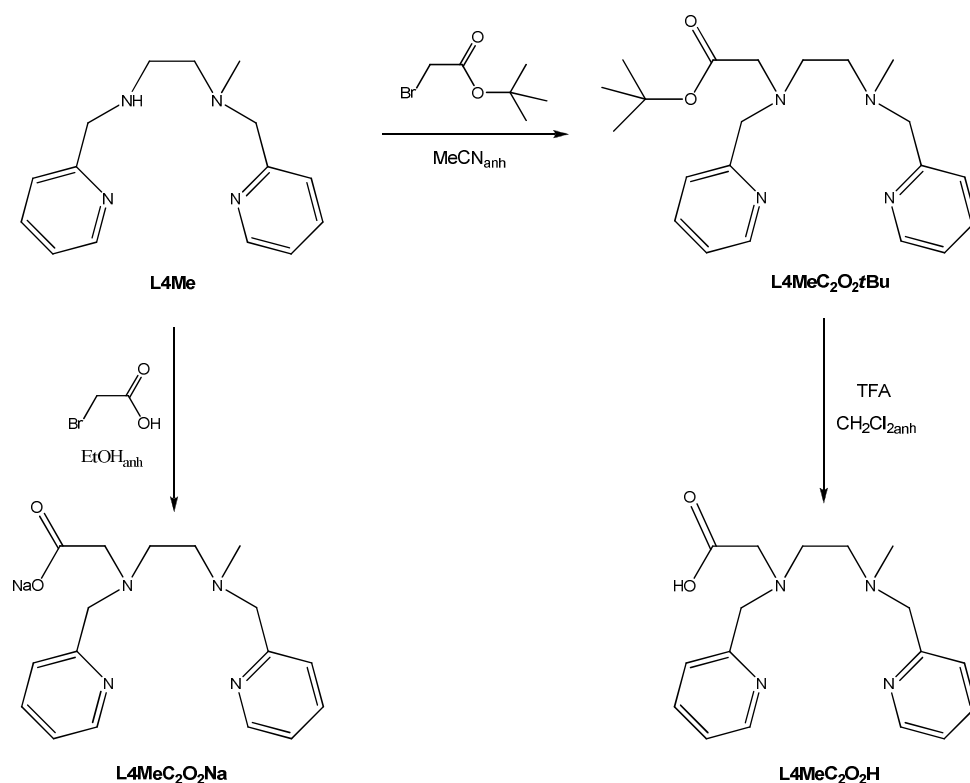


Schéma III-4. Les deux stratégies employées pour l'ajout d'un groupement carboxyle sur le ligand **L4Me**.

La méthode faisant intervenir l'acide bromoacétique a été décrite par McKenzie et coll.⁴ Cette stratégie, ne nécessitant qu'une seule étape, consiste à faire réagir l'amine secondaire du ligand **L4Me** avec une molécule d'acide bromoacétique suivant une substitution nucléophile du brome par l'amine, cette réaction se déroulant dans de l'éthanol anhydre en milieu anaérobie. Le produit résultant est traité avec de la soude, conduisant au ligand sous forme de carboxylate de sodium soluble dans l'eau (**L4MeC₂O₂Na**). Ce ligand est obtenu sous la forme d'une huile marron avec une masse correspondant à un rendement supérieur à 100%, ce qui indique la présence de soude qui ne peut être totalement éliminée.

Une autre stratégie nous permet d'obtenir le ligand sous forme non saline. Elle se fait en deux étapes, la première correspond à une substitution nucléophile du brome du bromoacétate de *tert*-butyle pour donner le ligand **L4MeC₂O₂tBu**. Celui-ci subit ensuite une déprotection avec l'utilisation d'acide trifluoroacétique pour conduire au ligand **L4MeC₂O₂H** possédant une fonction acide carboxylique (Schéma III-4).

Selon cette voie de synthèse, nous avons obtenu le ligand **L4MeC₂O₂tBu** avec un rendement de 44%, ainsi que le ligand **L4MeC₂O₂H** sous l'aspect d'une fine poudre marron clair avec un rendement de 88%.

Dans le but d'améliorer le rendement obtenu lors de la première étape de cette synthèse, nous avons travaillé à -20°C afin de limiter la formation d'impuretés. Sous cette condition, nous avons obtenu le ligand **L4MeC₂O₂tBu** avec 49% de rendement, ce qui ne constitue pas une nette amélioration. Ce faible rendement provient probablement de la mauvaise solubilité de la base employée (carbonate de potassium) dans l'acétonitrile. Ainsi, le ligand **L4Me** se comporte comme une base avec la protonation de ses pyridines et/ou de ses amines. Par conséquent, pour avoir un meilleur rendement, il serait préférable d'utiliser une base soluble telle que la triéthylamine ou le DBU.

La difficulté dans le cadre de la seconde étape est l'élimination de l'acide trifluoroacétique, et pour cause, il nous a fallu additionner de façon stillatoire le milieu réactionnel concentré à 20 mL d'éther, puis retirer le surnageant avant de sécher le produit sous pression réduite. Cependant, cette opération a dû être répétée trois fois avant d'obtenir le ligand sous la forme d'une poudre – et non pas d'une pâte – dépourvu de toute trace d'acide trifluoroacétique.

- Les ligands **L4diC₂O₂H**, **L2MeC₂O₂H** et **L2diC₂O₂H**

L'ajout de groupements carboxyle sur les trois autres ligands a été effectué de la même façon, à savoir par leur insertion sous forme d'ester suivie de la déprotection par l'acide trifluoroacétique (la structure des ligands est présentée Figure III-1).

Les rendements sont de 100%, 84% et 98% pour l'obtention des ligands **L4diC₂O₂H**, **L2MeC₂O₂H** et **L2diC₂O₂H**, respectivement.

I-2. Synthèse et caractérisation des complexes de fer(II)

I-2.1. Les complexes de fer(II) avec les ligands à deux groupements carboxyle L2diC₂O₂H et L4diC₂O₂H

I-2.1.1. Avec du perchlorate de fer(II) comme source de fer

Nous avons utilisé du Fe(ClO₄)₂ pour favoriser la compétition entre les groupements carboxyle et le contre-ion vis-à-vis de la coordination au centre ferreux.

De plus, des études menées en catalyse d'hydroxylation d'alcanes et d'époxydation d'alcènes utilisant des complexes de fer(II) non héminique de type [Fe^{II}(N₂Py₂)], ont montré

l'importance de la présence de sites labiles au niveau de la première sphère de coordination du métal pour avoir une catalyse efficace et sélective.⁵

- *Synthèse*

Tous les complexes de fer(II) ont été synthétisés en boîte à gants à température ambiante avec comme solvant de l'acétone. Ils ont été obtenus sous la forme de poudre après ajout d'éther au milieu réactionnel et séchage du précipité.

Le complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4diC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{ClO}_4)$ a été obtenu sous la forme d'une fine poudre verte avec un rendement de 51% ; quant au complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L2diC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{ClO}_4)_2$, il a été obtenu sous la forme d'une fine poudre marron clair selon un rendement de 43%.

Différentes caractérisations structurales et spectroscopiques ont été réalisées sur les complexes obtenus avec les ligands dicarboxylés dans le but de déterminer, en particulier, le mode de coordination des groupements carboxyle.

- *Etude par analyse élémentaire*

Le Tableau III-1 montre les analyses élémentaires des deux complexes de fer(II), dont les ligands ont deux carboxyles, avec les formules chimiques qui en résultent.

| | | % Expérimental | % Théorique | Formule de l'espèce |
|--|----|----------------|-------------|--|
| Complexe synthétisé à partir de L2diC₂O₂H | C | 40,60 | 40,40 | $\text{C}_{22}\text{H}_{28}\text{Cl}_2\text{FeN}_4\text{O}_{12}$ $\cdot \text{C}_3\text{H}_6\text{O} \cdot \text{H}_2\text{O}$ M = 743,2 g.mol⁻¹ |
| | H | 4,93 | 4,84 | |
| | Fe | 6,02 | 7,50 | |
| | N | 7,49 | 7,54 | |
| Complexe synthétisé à partir de L4diC₂O₂H | C | 35,63 | 35,26 | $\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{Cl}_2\text{FeN}_4\text{O}_{12}$ M = 613,1 g.mol⁻¹ |
| | H | 3,93 | 3,62 | |
| | Cl | 10,40 | 11,56 | |
| | Fe | 9,44 | 9,11 | |
| | N | 8,93 | 9,14 | |

Tableau III-1. Analyse élémentaire des complexes synthétisés à partir des ligands **L2diC₂O₂H** et **L4diC₂O₂H** et du perchlorate de fer(II).

Les données de l'analyse élémentaire nous confortent quant à l'obtention des deux complexes exempts de toute impureté. De plus, ces données mettent en évidence la présence de deux ions perchlorate, ce qui indique que les groupements carboxyle du ligand sont protonés.

- *Etude cristallographique*

Des cristaux incolores et orthorhombiques du complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L2diC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{ClO}_4)_2$ ont été obtenus par évaporation lente de l'acétone en boîte à gants. Des études de diffraction aux rayons X menées sur ces cristaux ont permis d'accéder à la structure du complexe (Figure III-2). Celui-ci cristallise selon le groupe d'espace chiral $P2_12_12_1$, la chiralité provenant des deux atomes de carbone asymétriques du motif cyclohexanediamine.

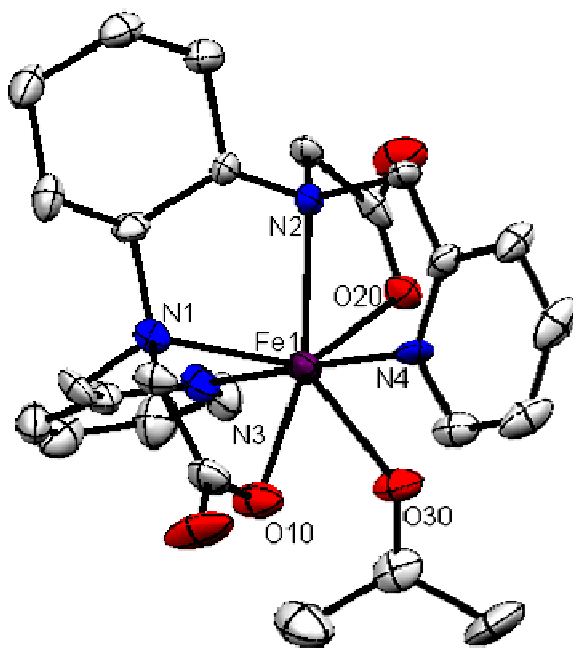


Figure III-2. Diagramme ORTEP du complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L2diC}_2\text{O}_2\text{H})]^{2+}$. Les deux contre-ions perchlorate et les atomes d'hydrogène ne figurent pas pour plus de clarté. Les atomes de carbone sont colorés en gris, ceux d'azote en bleu, ceux d'oxygène en rouge et l'ion Fe^{II} en mauve.

La structure du complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L2diC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{ClO}_4)_2$ nous montre qu'il est de coordinence sept – ce qui est rare pour un complexe de fer – et forme une bipyramide pentagonale distordue avec un plan équatorial constitué par les deux atomes d'azote des amines tertiaires (N1 et N2), des deux atomes d'oxygène des groupements carboxyles (O10 et O20) du ligand et de l'atome d'oxygène d'une molécule d'acétone (O30), solvant de cristallisation. Quant aux deux atomes d'azote des noyaux pyridine (N3 et N4), ils occupent le plan apical. Ces atomes constituent la première sphère de coordination de l'ion ferreux.

Par ailleurs, le ligand **L2diC₂O₂H** se coordine autour de l'ion ferreux selon une topologie *cis-α* – par analogie avec la topologie *cis-α* décrite pour les ions métalliques hexacoordinés –, étant donné que les deux cycles pyridine sont *trans* l'un par rapport à l'autre. En outre, nous observons que ces deux noyaux aromatiques sont disposés selon une conformation décalée formant un angle dièdre de 82,42°.

Certaines données structurales, comme des longueurs de liaison et des valeurs d'angle, sont représentées sur le Tableau III-2. Les autres données cristallographiques sont décrites dans l'Annexe 1.

| Longueur de liaison (Å) et valeur d'angle (degré) | | | |
|---|-------------|---|-------------|
| Fe ₁ -N ₁ | 2,308 (3) | Fe ₁ -N ₂ | 2,298 (3) |
| Fe ₁ -N ₃ | 2,161 (3) | Fe ₁ -N ₄ | 2,163 (3) |
| Fe ₁ -O ₁₀ | 2,292 (2) | Fe ₁ -O ₂₀ | 2,289 (2) |
| Fe ₁ -O ₃₀ | 2,172 (2) | | |
| N ₁ -Fe ₁ -N ₂ | 76,97 (10) | N ₁ -Fe ₁ -N ₃ | 75,67 (11) |
| N ₁ -Fe ₁ -N ₄ | 106,89 (10) | N ₂ -Fe ₁ -N ₃ | 104,54 (11) |
| N ₂ -Fe ₁ -N ₄ | 76,45 (11) | N ₃ -Fe ₁ -N ₄ | 177,43 (11) |
| N ₁ -Fe ₁ -O ₁₀ | 70,30 (10) | N ₁ -Fe ₁ -O ₂₀ | 136,69 (10) |
| N ₁ -Fe ₁ -O ₃₀ | 142,95 (10) | N ₂ -Fe ₁ -O ₁₀ | 133,10 (10) |
| N ₂ -Fe ₁ -O ₂₀ | 70,82 (9) | N ₂ -Fe ₁ -O ₃₀ | 140,00 (10) |
| N ₃ -Fe ₁ -O ₁₀ | 98,91 (11) | N ₃ -Fe ₁ -O ₂₀ | 85,11 (10) |
| N ₃ -Fe ₁ -O ₃₀ | 92,20 (10) | N ₄ -Fe ₁ -O ₁₀ | 81,90 (11) |
| N ₄ -Fe ₁ -O ₂₀ | 93,04 (10) | N ₄ -Fe ₁ -O ₃₀ | 85,60 (11) |
| O ₁₀ -Fe ₁ -O ₂₀ | 152,15 (8) | O ₁₀ -Fe ₁ -O ₃₀ | 77,44 (9) |
| O ₂₀ -Fe ₁ -O ₃₀ | 74,86 (9) | | |

Tableau III-2. Aspects structuraux du complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L2diC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{ClO}_4)_2$ concernant uniquement la première sphère de coordination de l'ion Fe^{II} .

La longueur des liaisons est caractéristique d'un Fe^{II} haut-spin ($S = 2$) avec les plus hautes valeurs se trouvant pour les liaisons entre les amines tertiaires du ligand et l'ion

ferreux ($\text{Fe}_1\text{-N}_1$ et $\text{Fe}_1\text{-N}_2$, $d_{\text{moy}} \sim 2,300 \text{ \AA}$). Quant aux pyridines, ce sont les ligands avec lesquels la liaison de coordination est la plus forte compte tenu de la longueur de celles-ci ($\text{Fe}_1\text{-N}_3$ et $\text{Fe}_1\text{-N}_4$, $d_{\text{moy}} = 2,262 \text{ \AA}$). Pour ce qui est des distances entre le centre ferreux et les atomes d'oxygène O10 et O20 des groupements carboxyle, celles-ci sont relativement grandes ($d_{\text{moy}} = 2,290 \text{ \AA}$). Cette valeur indique que les groupements carboxyle sont protonés, sachant que des longueurs de liaisons $\text{Fe}^{\text{II}}\text{-O}$ de 2,00 à 2,15 \AA sont généralement trouvées pour des ligands carboxylate.⁶ De plus, les distances C-O pour les groupements carboxyle sont différentes, la plus courte impliquant l'atome d'oxygène lié au fer (1,227 contre 1,309 \AA). Ainsi, ces groupements sont coordonnés à l'ion Fe^{II} par les carbonyles, un mode de coordination relativement rare, rapporté seulement pour deux espèces polynucléaires au niveau desquelles le groupement carboxyle pontait deux sites à fer.⁷

Le septième ligand correspond à une molécule d'acétone qui se coordine au fer aussi par l'atome d'oxygène du carbonyle (O30). La liaison entre l'atome d'oxygène du carbonyle de l'acétone et l'ion Fe^{II} ($\text{Fe}_1\text{-O}_{30}$) est assez courte (2,172 \AA), ce qui montre qu'il se lie au métal plus fortement que les atomes d'oxygène des carbonyles des groupements carboxyle du ligand. Ceci peut s'expliquer par la délocalisation électronique dont sont le siège ces groupements, appauvrissant la densité électronique sur l'atome d'oxygène du carbonyle. Toujours est-il que nous pouvons constater, dans ce cas, que les atomes d'azote des noyaux pyridine sont les meilleurs ligands de l'ion Fe^{II} .

En outre, un ion perchlorate semble établir une liaison hydrogène avec l'atome d'oxygène non carbonyle de l'un des deux groupements carboxyle.

Etant donné que nous n'avons pas obtenu la structure cristallographique du complexe réalisé à partir du ligand **L4diC₂O₂H**, son mode de coordination a été déduit de la comparaison avec les données spectroscopiques du complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L2diC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{ClO}_4)_2$, dont nous venons de décrire la structure.

- *Etude par spectroscopie infrarouge*

Le spectre infrarouge du complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L2diC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{ClO}_4)_2$ nous servira de référence – étant donné que nous connaissons sa structure tridimensionnelle – pour définir le mode de coordination des autres complexes que nous ne sommes pas parvenus à cristalliser.

La Figure III-3 montre le spectre infrarouge du complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L2diC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{ClO}_4)_2$ et celui du complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4diC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{ClO}_4)_2$, les spectres infrarouge étant réalisés sur les complexes à l'état solide.

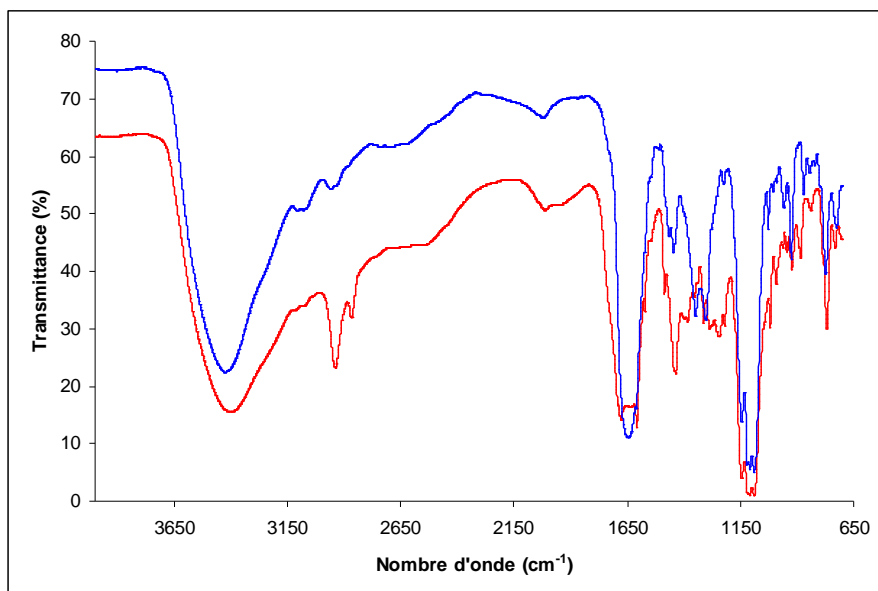


Figure III-3. Spectre infrarouge du complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L2diC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{ClO}_4)_2$ (rouge) comparé à celui du complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4diC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{ClO}_4)_2$ (bleu).

Les deux spectres IR présentent une large bande intense vers 3400 cm^{-1} correspondant aux hydroxyles des groupements carboxyle. La zone caractéristique des acides carboxyliques et des carboxylates est différente dans les deux spectres. En effet, pour le complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L2diC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{ClO}_4)_2$ (rouge sur la Figure III-3) nous observons une résonance fine à 1676 cm^{-1} qui est attribuée à l'étirement de la liaison $\text{C}=\text{O}$ de la molécule d'acétone liée à l'ion ferreux (Figure III-3). Cette résonance est suivie d'une bande large centrée à 1640 cm^{-1} correspondant à l'élongation asymétrique des carbonyles des groupements carboxyle ($\nu_{\text{C}=\text{Oas}}$). Il est connu que les groupements carboxyle libres présentent une bande située au-dessus de 1700 cm^{-1} ; or, selon la structure cristallographique (Figure III-2), ces groupements sont liés à l'ion Fe^{II} par leurs carbonyles, d'où cette plus faible valeur. Quant à la fine bande à 1608 cm^{-1} , elle est attribuée à l'élongation des liaisons $\text{C}=\text{N}$ des noyaux pyridine.

En ce qui concerne le complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4diC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{ClO}_4)_2$ (bleu sur la Figure III-3), l'élongation $\nu_{\text{C}=\text{Oas}}$ se présente sous la forme d'une seule résonance large centrée à 1632 cm^{-1} , montrant l'absence de molécule d'acétone liée à l'ion ferreux. Ces valeurs pour l'étirement asymétrique des liaisons $\text{C}=\text{O}$ indiquent que le mode de coordination des groupements carboxyle est le même pour les deux complexes.

Les différents pics des spectres infrarouge des complexes $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L2diC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{ClO}_4)_2$ et $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4diC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{ClO}_4)_2$, ainsi que leurs attributions sont présentés sur le Tableau III-3.

| | IR (cm^{-1}) | Attribution |
|---|-------------------------|--------------------------------------|
| Complexe | 1640 | $\nu(\text{C}=\text{O})$ asymétrique |
| $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L2diC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{ClO}_4)_2$ | 1436 | $\nu(\text{C}=\text{O})$ symétrique |
| | 1144, 1090 et 1111 | ClO_4 |
| Complexe | 1632 | $\nu(\text{C}=\text{O})$ asymétrique |
| $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4diC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{ClO}_4)_2$ | 1446 | $\nu(\text{C}=\text{O})$ symétrique |
| | 1121 et 1108 | ClO_4 |

Tableau III-3. Principales caractéristiques des complexes $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L2diC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{ClO}_4)_2$ et $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4diC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{ClO}_4)_2$ en spectroscopie infrarouge.

Pour ce qui est des bandes situées entre 1090 et 1144 cm^{-1} , elles confirment la présence des ions perchlorate. Les intensités relatives entre ces bandes et celles des groupements carboxyle sont très proches, ce qui confirme que ces deux complexes ont des structures similaires. Les ions perchlorate ne sont pas liés sur le fer, comme l'indique la structure du complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L2diC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{ClO}_4)_2$, mais sont en contre-ions, ce qui n'est pas surprenant sachant que les ions perchlorate sont de très mauvais ligands de l'ion Fe^{II} .

- *Etude par spectrométrie de masse à ionisation par électrospray (ESI)*

Le spectre de masse, présenté sur la Figure III-4, nous conforte quant à l'obtention du complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L2diC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{ClO}_4)_2$.

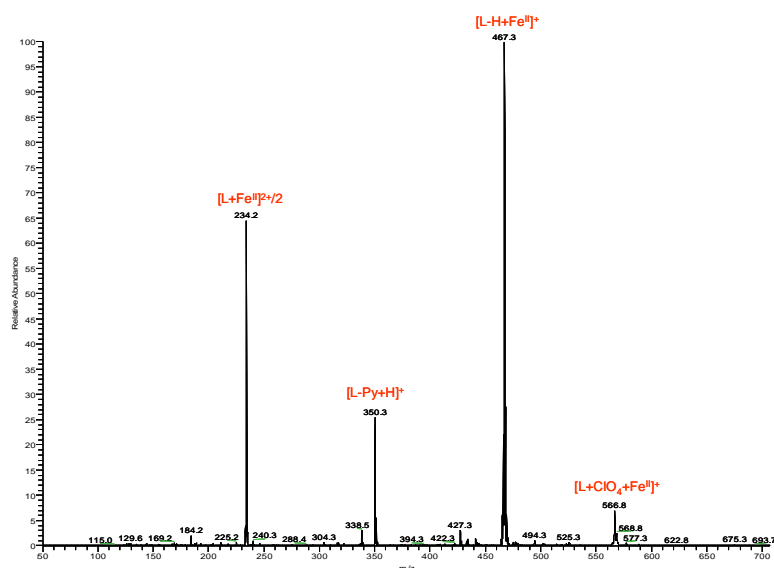


Figure III-4. Spectre de masse du complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L2diC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{ClO}_4)_2$ en mode positif dans l'acétone dégazée.

Le pic principal à m/z 467,3 (100%) correspond au complexe avec un carboxyle déprotoné $[(L-H+Fe^{II})^+]$. Le pic à m/z 234,2 (64%) est attribué au dication $[L+Fe^{II}]^{2+}$ et celui à m/z 566,8 (7%) au complexe avec les deux carboxyles protonés $[L+ClO_4+Fe^{II}]^+$. Le pic à m/z 350,3 est relié à une entité organique dépourvue de fer, correspondant au ligand ayant perdu un noyau pyridine.

Dans le cas du complexe $[Fe^{II}(L4diC_2O_2H)](ClO_4)_2$, le spectre de masse présente les fragments $[L-H+Fe^{II}]^+$ et $[L-H+Cl+Fe^{III}]^+$ à m/z 413,3 (46%) et 448,2 (100%), respectivement. La présence de l'ion ferrique résulte de l'instabilité du complexe dans les conditions d'analyses. Quant à l'ion chlorure, il proviendrait de la présence de sel dans la chambre d'ionisation.

- *Etude par spectroscopie d'absorption UV-visible*

Après les études structurales des complexes $[Fe^{II}(L2diC_2O_2H)](ClO_4)_2$ et $[Fe^{II}(L4diC_2O_2H)](ClO_4)_2$, nous nous sommes intéressés à leurs propriétés en spectroscopie d'absorption UV-visible (Figure III-5).

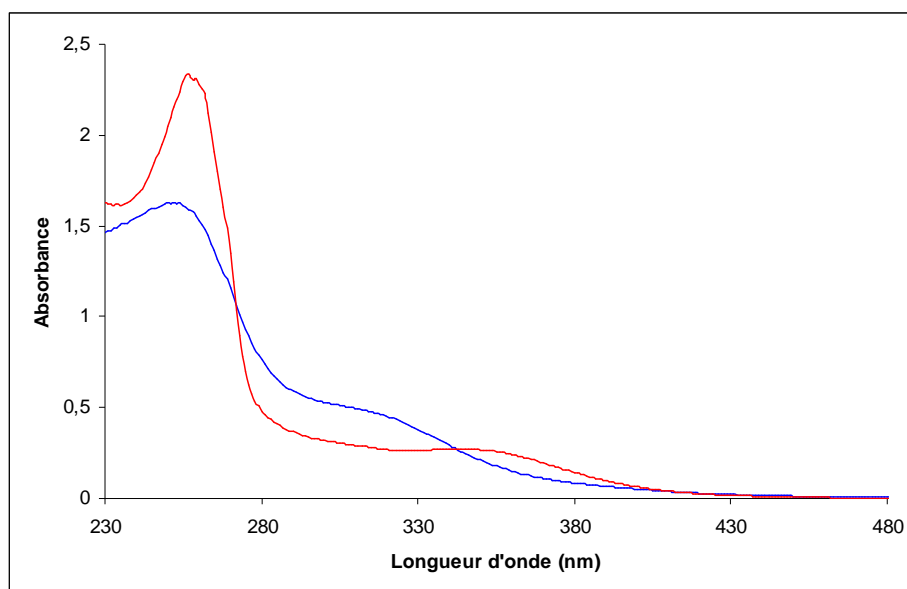


Figure III-5. Spectres UV-visible des complexes $[Fe^{II}(L2diC_2O_2H)](ClO_4)_2$ (250 μ M, rouge) et $[Fe^{II}(L4diC_2O_2H)](ClO_4)_2$ (125 μ M, bleu) dans l'acétonitrile dégazé.

Le spectre UV-visible du complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L2diC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{ClO}_4)_2$ présente deux bandes d'absorption, l'une bien définie et intense à 257 nm ($\epsilon = 8,95 \text{ mM}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) et l'autre très large et mal définie vers 342 nm ($\epsilon = 1,10 \text{ mM}^{-1}.\text{cm}^{-1}$).

Quant au complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4diC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{ClO}_4)_2$, nous observons sur son spectre UV-visible une bande bien définie et intense à 250 nm ($\epsilon = 13,1 \text{ mM}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) et une mal définie et large située vers 305 nm ($\epsilon = 3,90 \text{ mM}^{-1}.\text{cm}^{-1}$).

Les bandes d'absorption situées entre 250 et 260 nm correspondent aux transitions électroniques $\pi \rightarrow \pi^*$ des noyaux pyridine, tandis que celles situées entre 300 et 350 nm sont attribuées à une transition de charge entre l'ion Fe^{II} et les pyridines, même si ces bandes se retrouvent habituellement vers 400 nm pour les complexes de fer(II) contenant exclusivement des groupements pyridine.^{8c}

- *Etude par RMN ^1H paramagnétique*

Les spectres RMN $^1\text{H}_{\text{para}}$ des complexes $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L2diC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{ClO}_4)_2$ et $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4diC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{ClO}_4)_2$ sont similaires avec la présence de pics entre -30 et 140 ppm, une distribution attestant d'un fer(II) haut-spin ($S = 2$), en accord avec les données structurales du complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L2diC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{ClO}_4)_2$. L'attribution des pics a été effectuée par comparaison avec d'autres complexes de fer(II) décrits dans la littérature.⁸

Ces deux complexes ont des spectres RMN $^1\text{H}_{\text{para}}$ assez proches avec des pics larges au-dessus de 60 ppm, attribués aux protons en *ortho* des pyridines et à des protons méthyléniques. Nous observons aussi trois pics entre 45 et 65 ppm, dont deux très fins, qui correspondent aux protons en *méta* des pyridines (H_m et H_m'), et un plus large attribué à des protons méthyléniques. Nous constatons toutefois des différences dans la zone comprise entre 0 et 10 ppm se traduisant par un grand nombre de résonances fines pour le complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L2diC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{ClO}_4)_2$, qui sont reliés aux protons du cyclohexane. De plus, nous observons une résonance très fine à -15 ppm pour le complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L2diC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{ClO}_4)_2$, quant au complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4diC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{ClO}_4)_2$, une résonance plus large se situe à -30 ppm. Dans les deux cas, ce pic est attribué aux protons en *para* des pyridines (H_p) ou à deux protons méthyléniques. L'élargissement et le déplacement de certains pics sur le spectre RMN $^1\text{H}_{\text{para}}$ du complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4diC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{ClO}_4)_2$ sont probablement dus à l'absence de molécule d'acétone coordonné au fer – donnant ainsi un site plus labile –, ainsi qu'à la présence d'un motif éthylènediamine ou cyclohexanediamine (Figure III-6).

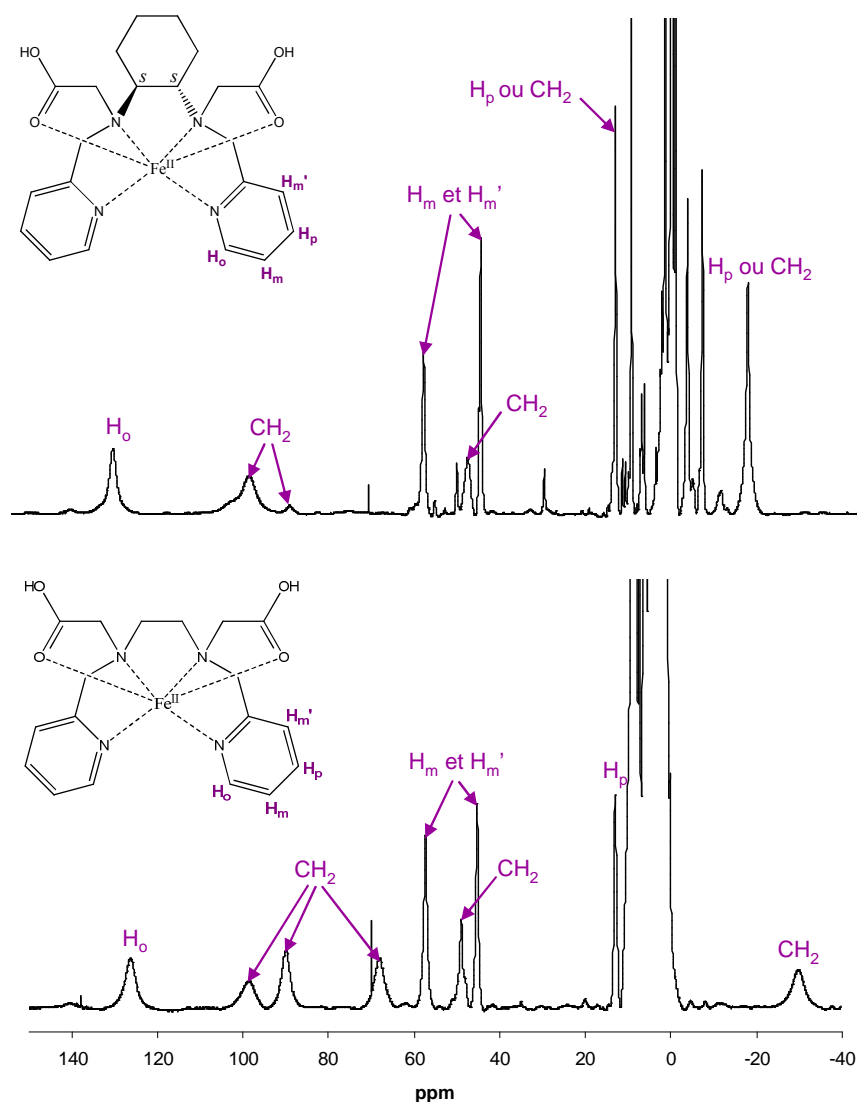


Figure III-6. Spectres RMN $^1\text{H}_{\text{para}}$ des complexes $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L2diC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{ClO}_4)_2$ et $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4diC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{ClO}_4)_2$ dans l'acétone deutérée.

Pour les deux spectres RMN $^1\text{H}_{\text{para}}$, il n'y a qu'une seule résonance correspondante aux protons en *ortho* des pyridines qui se situe vers 130 ppm. Ceci implique que la géométrie de coordination est conservée en solution et qu'elle est la même pour les deux complexes. Par conséquent, le ligand du complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4diC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{ClO}_4)_2$ se coordine à l'ion ferreux selon la topologie *cis- α* . Cette géométrie implique que les deux atomes d'azote des amines soient dans des plans perpendiculaires aux deux atomes d'azote des noyaux pyridine.

Les différentes études spectroscopiques effectuées sur les complexes préparés avec les ligands à deux groupements carboxyle **L4diC₂O₂H** et **L2diC₂O₂H** et du $\text{Fe}(\text{ClO}_4)_2$, ont montré qu'ils possèdent des propriétés structurales et électroniques assez proches. Nous en déduisons que le complexe synthétisé à partir du ligand **L4diC₂O₂H** a le même mode de

coordination que le complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L2diC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{ClO}_4)_2$, à savoir la liaison des deux groupements carboxyle sur le centre ferreux par leurs carbonyles, ajoutée de la coordination par les deux amines et les deux pyridines. Cependant, contrairement au complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L2diC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{ClO}_4)_2$, il ne semble pas qu'une molécule d'acétone soit liée à l'ion ferreux du complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4diC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{ClO}_4)_2$.

Par ailleurs, les études en RMN $^1\text{H}_{\text{para}}$ ont mis en évidence que ces deux complexes ont leurs ligands en topologie *cis-α*

I-2.1.2. Avec du chlorure de fer(II) comme source de fer

- *Synthèse*

Comme pour les complexes de fer(II) synthétisés avec du $\text{Fe}(\text{ClO}_4)_2$, la préparation des complexes de fer(II) avec un équivalent de FeCl_2 a été faite en boîte à gants à température ambiante avec comme solvant de l'acétone. L'ajout d'éther au milieu réactionnel suivi de la filtration du précipité a conduit à l'obtention d'une fine poudre jaune pour les complexes synthétisés avec les ligands **L2diC₂O₂H** et **L4diC₂O₂H** avec des rendements de 63 et 64%, respectivement.

- *Etude par spectrométrie de masse ESI*

Les Figures III-7 et III-8 présentent respectivement les spectres de masse des complexes à ligands **L2diC₂O₂H** et **L4diC₂O₂H** dans l'acétone dégazée, et ce, en modes positif et négatif.

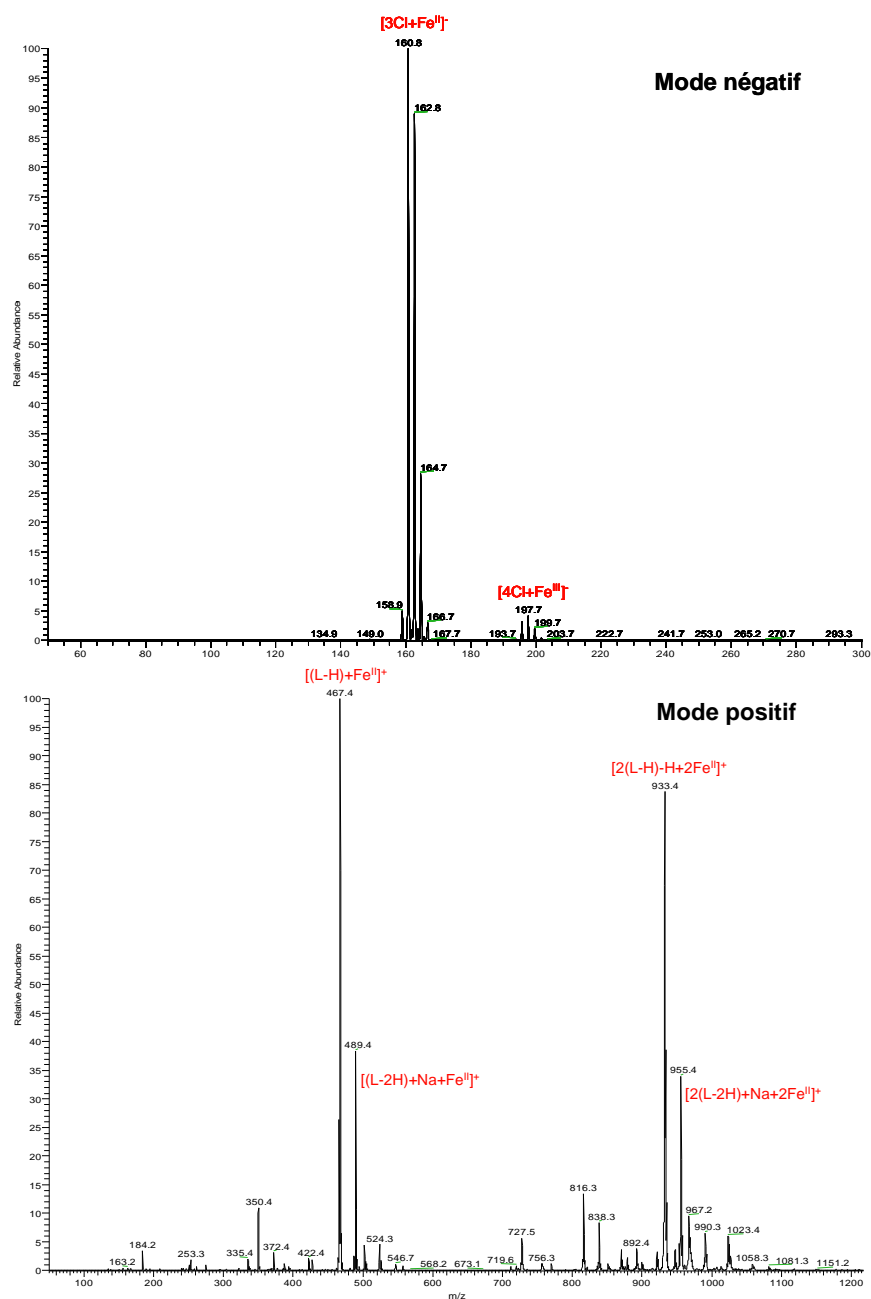


Figure III-7. Spectre de masse du complexe avec le ligand **L2diC₂O₂H** en modes négatif et positif dans l'acétone dégazée.

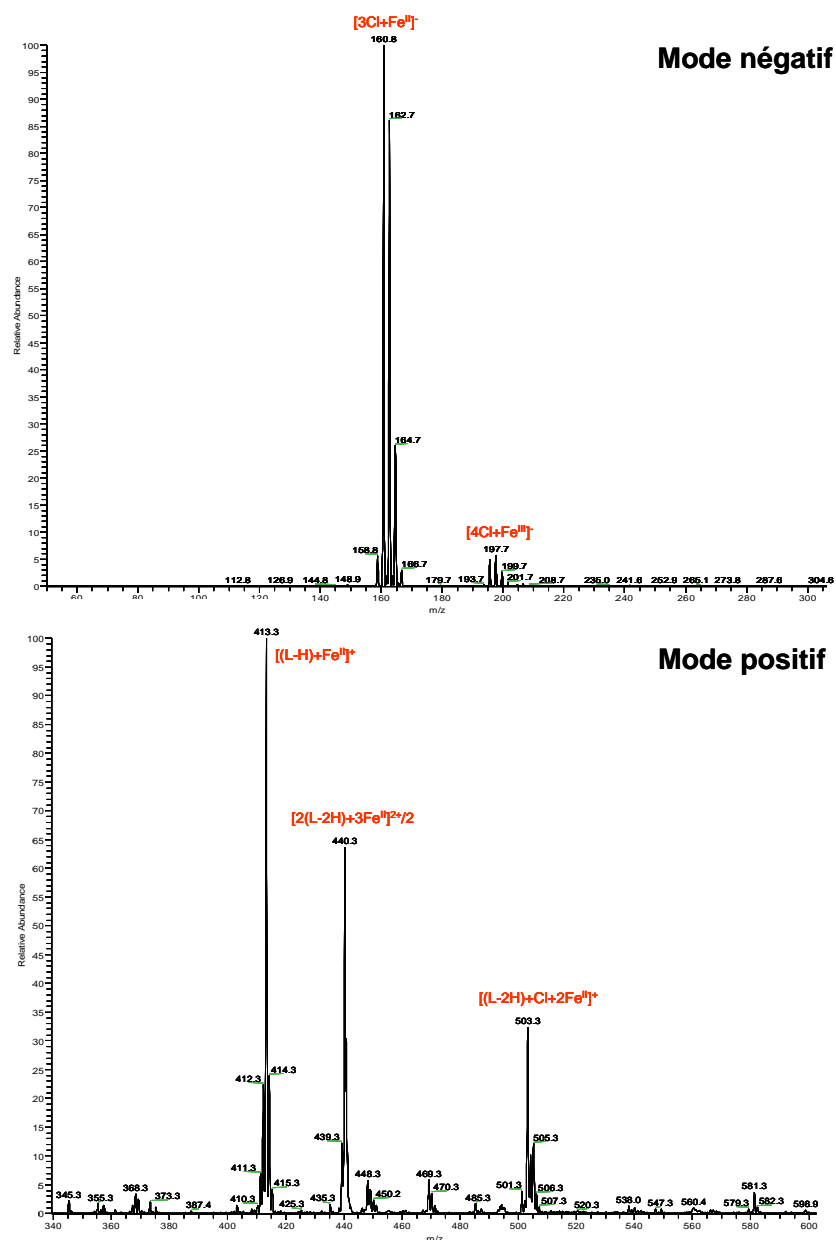


Figure III-8. Spectre de masse du complexe avec le ligand **L4diC₂O₂H** en modes négatif et positif dans l'acétone dégazée.

Pour les deux complexes, en mode négatif, nous observons une distribution isotopique centrée à m/z 160,8 qui correspond à l'anion $\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_3^-$. Ce dernier provient de la fragmentation de l'espèce $\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4^{2-}$, un dianion non détectable dans les conditions d'enregistrement. Le fragment à m/z 197,8 conforte sa présence étant donné qu'il est relié à l'anion $\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cl}_4^-$, celui-ci résultant probablement de l'oxydation de l'espèce $\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4^{2-}$.

En mode positif, des fragments correspondant à $[\text{LFe}^{\text{II}}-\text{H}]^+$ (100%) sont observés à m/z 467,4 et 413,3 pour les complexes des ligands **L2diC₂O₂H** et **L4diC₂O₂H**, respectivement.

D'autres fragments, dépendant de la nature du ligand, sont aussi présents. Ainsi, pour le complexe à ligand **L2diC₂O₂H**, le fragment à m/z 933,4 (83%) correspond au cation $[2(L-H)-H+2Fe^{II}]^+$ et celui à m/z 955,4 (34%) est attribué à $[2(L-2H)+Na+2Fe^{II}]^+$. La première espèce est constituée de l'association de deux ligands – dont l'un a seulement un carboxyle déprotoné et l'autre les deux carboxyles déprotonés – et de deux ions ferreux. La seconde consiste en deux ligands ayant les deux carboxyles déprotonés, un ion sodium provenant probablement de l'appareillage et deux ions ferreux. Quant au complexe à ligand **L4diC₂O₂H**, nous observons un fragment à m/z 440,3 (64%), relié à l'espèce dichargée $[2(L-2H)+3Fe^{II}]^{2+}$, et un fragment à m/z 503,3 (33%) qui est attribué à $[(L-2H)+Cl+2Fe^{II}]^+$. Ces fragments correspondent à des agrégats ioniques dont nous ne savons s'ils proviennent de l'expérience ESI-MS ou s'ils sont présents, au départ, dans les échantillons. Nous pouvons toutefois remarquer que pour les agrégats présents sur le spectre de masse du complexe à ligand **L4diC₂O₂H**, il y a toujours un ion Fe^{II} de plus que le nombre de ligands, ce qui suggère qu'un ion ferreux n'est pas coordonné par le ligand. Par contre, dans le cas de l'autre ligand, les clusters sont constitués d'un même nombre de ligands et d'ions Fe^{II} . Cela indique probablement une pureté plus importante du complexe à ligand **L2diC₂O₂H**.

En outre, les espèces ioniques trouvées pour les deux complexes comportent toujours un ligand avec un ou les deux groupements carboxyle sous forme carboxylate et quasiment jamais d'ion chlorure. Ces deux aspects nous font envisager que, pour ces complexes, le ligand posséderait un des deux groupements carboxyle déprotoné et coordonné sur le centre métallique.

- *Etude par analyse élémentaire*

Les données de l'analyse élémentaire du complexe de fer(II) préparé avec le ligand **L2diC₂O₂H** et du $FeCl_2$, sont présentées dans le Tableau III-4.

| | | % Expérimental | % Théorique | Formule de l'espèce |
|--|---|----------------|-------------|--|
| Complexe synthétisé à partir de L2diC₂O₂H | C | 43,62 | 43,85 | $C_{22}H_{28}Cl_3Fe_{1,5}O_4$ M = 546,6 g.mol⁻¹ |
| | H | 4,97 | 4,68 | |
| | N | 9,15 | 9,30 | |

Tableau III-4. Analyse élémentaire du complexe synthétisé à partir du ligand **L2diC₂O₂H** et du chlorure de fer(II).

L'analyse élémentaire du complexe de fer(II) synthétisé avec le ligand **L2diC₂O₂H** est en accord avec la formule $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L2diC}_2\text{O}_2\text{H})\text{Cl}](1/2\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$. Cela implique que, contrairement à ce que nous laissait supposer l'étude en spectrométrie de masse, les deux groupements carboxyle restent protonés. Par contre, il ne nous a pas été possible d'obtenir, jusqu'à ce jour, une analyse cohérente du complexe préparé avec le ligand **L4diC₂O₂H**. Cependant, les analyses spectroscopiques ci-dessous nous confortent sur une structure proche de celle du complexe à ligand **L2diC₂O₂H**.

- *Etude par spectroscopie infrarouge*

La Figure III-9 représente le spectre IR du complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4diC}_2\text{O}_2\text{H})\text{Cl}](1/2\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$ comparé à celui du complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L2diC}_2\text{O}_2\text{H})\text{Cl}](1/2\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$. Ces spectres ont été réalisés sur les complexes sous forme de poudre.

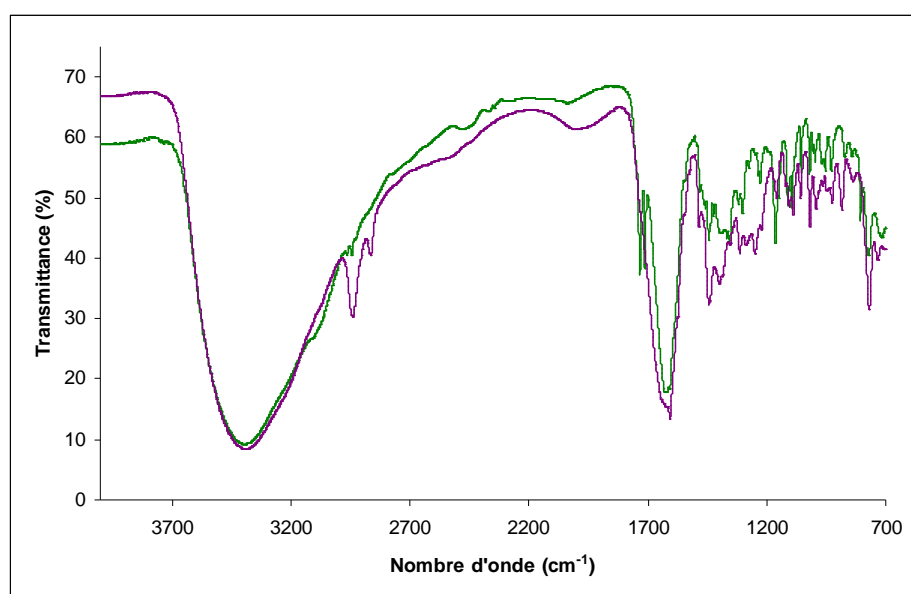


Figure III-9. Spectres infrarouges des complexes $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L2diC}_2\text{O}_2\text{H})\text{Cl}](1/2\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$ (mauve) $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4diC}_2\text{O}_2\text{H})\text{Cl}](1/2\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$ (vert).

Les spectres IR des deux complexes se superposent quasiment, à l'exception de la présence de deux pics dans la région située entre 2700 et 3000 cm^{-1} pour le complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L2diC}_2\text{O}_2\text{H})\text{Cl}](1/2\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$ (mauve sur la Figure III-9), qui sont attribués à l'élongation des liaisons C-H du cyclohexane. Pour ce qui est de la zone du spectre correspondant aux acides carboxyliques, nous observons une résonance large centrée à 1620 cm^{-1} pour le complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4diC}_2\text{O}_2\text{H})\text{Cl}](1/2\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$ (vert sur la Figure III-9) et une bande large vers 1628 cm^{-1} suivie d'un pic fin à 1605 cm^{-1} , ce dernier lié à l'étirement $\nu_{\text{C}=\text{N}}$ des pyridines, pour

le complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L2diC}_2\text{O}_2\text{H})\text{Cl}](1/2\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$. Ces deux larges résonances, qui sont attribuées aux vibrations $\nu_{\text{C=Oas}}$, se situent à des nombres d'onde très proches, indiquant un mode de coordination identique pour les groupements carboxyle des deux complexes. En outre, ces bandes se situent avant 1700 cm^{-1} , ce qui suggère que les groupements carboxyle sont liés sur le centre métallique. Par contre, il existe une différence importante qui se traduit par une transition à 1732 cm^{-1} sur le spectre du complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4diC}_2\text{O}_2\text{H})\text{Cl}](1/2\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$ caractéristique d'une liaison C=O d'un groupement carboxyle libre. Nous pouvons dès lors proposer que les deux carboxyles aient des modes de coordination différents au sein d'un même ligand.

- *Etude par spectroscopie d'absorption UV-visible*

Les spectres UV-visible des complexes $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L2diC}_2\text{O}_2\text{H})\text{Cl}](1/2\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$ et $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4diC}_2\text{O}_2\text{H})\text{Cl}](1/2\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$ ont été effectués à température ambiante en solution dans de l'acétonitrile anhydre, dépourvu de dioxygène (Figure III-10).

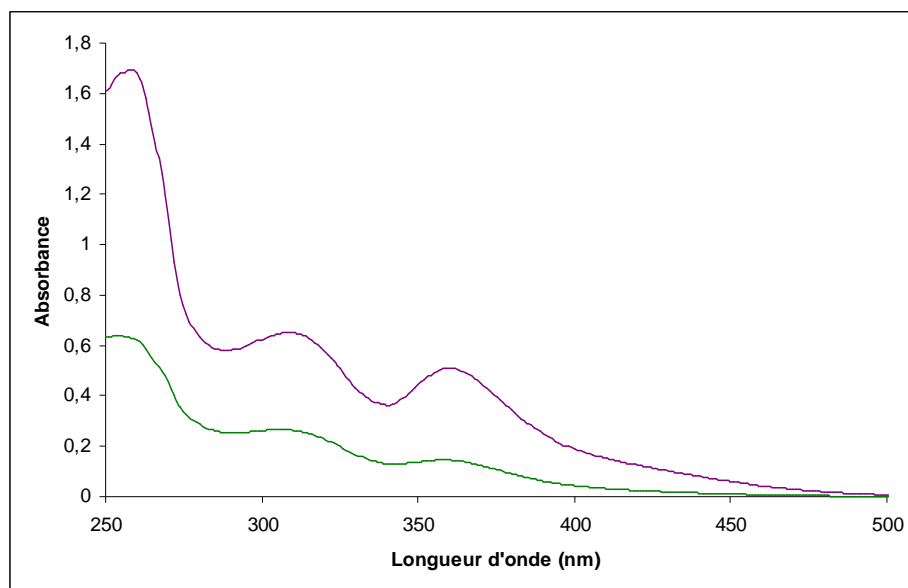


Figure III-10. Spectre UV-visible du complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L2diC}_2\text{O}_2\text{H})\text{Cl}](1/2\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$ (mauve, 250 μM) et celui du complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4diC}_2\text{O}_2\text{H})\text{Cl}](1/2\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$ (vert, 125 μM) dans l'acétonitrile dégazé.

Les deux complexes possèdent des spectres UV-visible similaires avec une forte bande d'absorption à 254 nm ($\epsilon = 5,57\text{ mM}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$) pour le complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4diC}_2\text{O}_2\text{H})\text{Cl}](1/2\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$ et à 259 nm ($\epsilon = 7,22\text{ mM}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$) pour le complexe

$[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L2diC}_2\text{O}_2\text{H})\text{Cl}](1/2\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$. Cette bande d'absorption est reliée aux transitions électroniques $\pi \rightarrow \pi^*$ des pyridines.

Nous observons aussi des bandes de plus faible coefficient d'extinction molaire à 307 nm ($\epsilon = 2,51 \text{ mM}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) et 359 nm ($\epsilon = 1,31 \text{ mM}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) pour le complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4diC}_2\text{O}_2\text{H})\text{Cl}](1/2\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$, ainsi que 309 nm ($\epsilon = 2,66 \text{ mM}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) et 360 nm ($\epsilon = 2,06 \text{ mM}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) pour le complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L2diC}_2\text{O}_2\text{H})\text{Cl}](1/2\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$. Ces transitions sont aussi observées pour l'espèce $\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cl}_4^-$ avec des coefficients d'extinction molaire bien plus élevés ($\epsilon \sim 8\text{-}10 \text{ mM}^{-1}.\text{cm}^{-1}$), tandis que l'espèce $\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4^{2-}$ ne possède pas de bandes d'absorption dans cette région du spectre.⁹ Par ailleurs, les bandes de transfert de charge entre l'ion Fe^{II} et les pyridines du ligand sont présentes dans cette zone, comme vu précédemment.

En conséquence, les deux bandes d'absorption que nous observons pour les complexes $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L2diC}_2\text{O}_2\text{H})\text{Cl}](1/2\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$ et $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4diC}_2\text{O}_2\text{H})\text{Cl}](1/2\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$ sont soit reliées à des transferts de charge impliquant l'ion ferreux et le ligand, soit attestent de la présence d'une faible quantité d'anion $\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cl}_4^-$, issue de l'oxydation partielle de l'espèce $\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4^{2-}$. Pour s'en assurer, le complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L2diC}_2\text{O}_2\text{H})\text{Cl}](1/2\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$ est mis en présence de dioxygène pendant quinze minutes (Figure III-11).

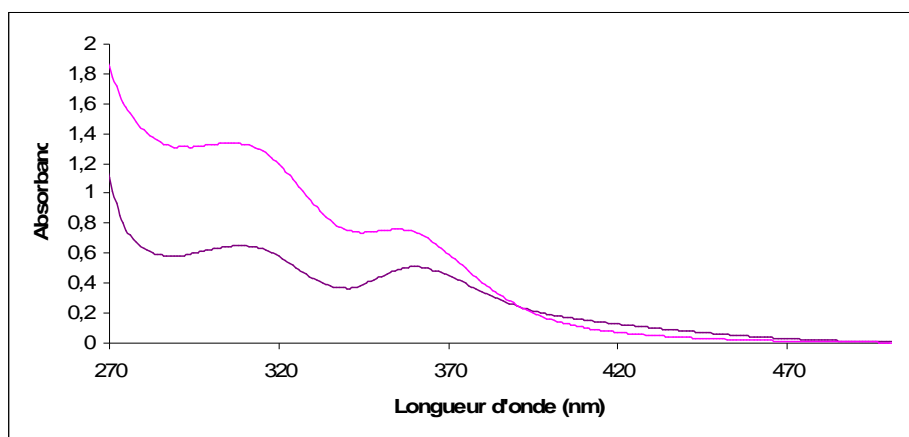


Figure III-11. Spectre UV-visible du complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L2diC}_2\text{O}_2\text{H})\text{Cl}](1/2\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$ (250 μM) avant (mauve) et après exposition à l'air pendant 15 minutes (rose) dans l'acétonitrile.

Suite à l'exposition du complexe à l'air, le spectre UV-visible ci-dessus évolue selon une augmentation des transitions à 360 nm de 40%. En considérant le coefficient d'extinction molaire de l'anion $\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cl}_4^-$, la proportion de cette espèce correspond à la moitié de l'espèce cationique. Nous avons donc ici la confirmation de l'analyse élémentaire.

- *Etude par spectroscopie RMN ^1H paramagnétique*

La Figure III-12 présente les spectres RMN $^1\text{H}_{\text{para}}$ des complexes $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L2diC}_2\text{O}_2\text{H})\text{Cl}](1/2\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$ et $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4diC}_2\text{O}_2\text{H})\text{Cl}](1/2\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$ dans l'acétone deutérée.

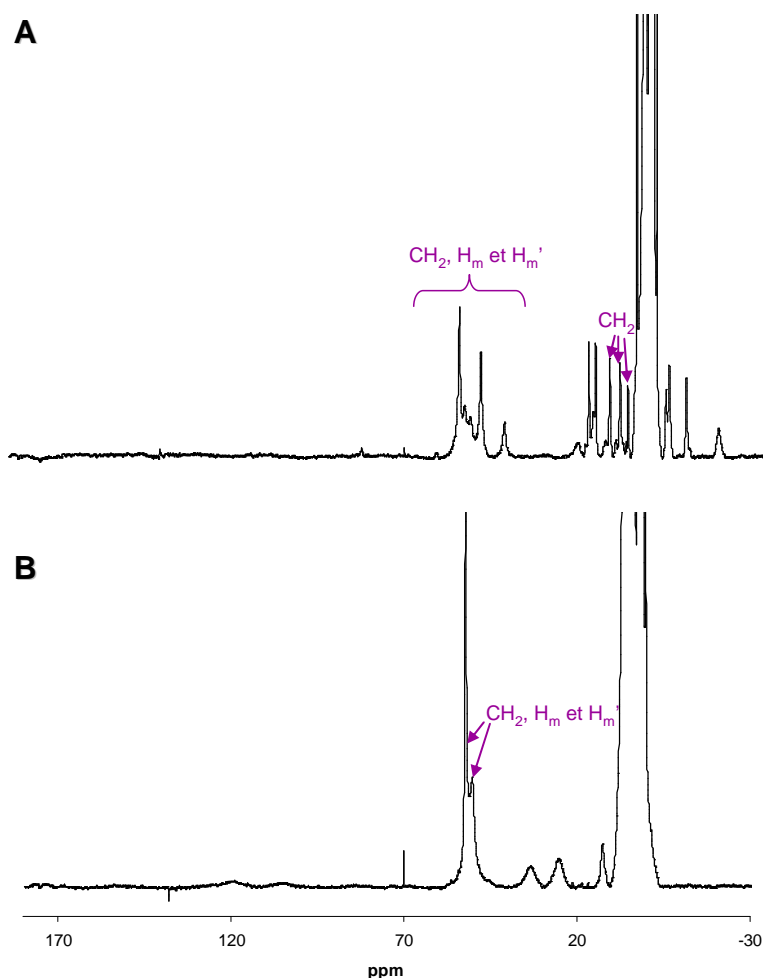


Figure III-12. Spectres RMN $^1\text{H}_{\text{para}}$ des complexes $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L2diC}_2\text{O}_2\text{H})\text{Cl}](1/2\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$ (**A**) et $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4diC}_2\text{O}_2\text{H})\text{Cl}](1/2\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$ (**B**) dans l'acétone deutérée.

Les spectres RMN $^1\text{H}_{\text{para}}$ des deux complexes sont relativement proches, mais distincts de ceux qui ont été préparés à partir de perchlorate de fer(II). Pour le complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L2diC}_2\text{O}_2\text{H})\text{Cl}](1/2\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$, la distribution de résonances est semblable à celle du complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L2diC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{ClO}_4)_2$, excepté la perte de pics au-dessus de 50 ppm. Cette différence peut provenir d'un changement dans la topologie du ligand, sachant que les protons H_o des pyridines sont les plus proches du métal et donc les plus affectés par les positions relatives de celles-ci.¹⁰ Par conséquent, nous proposons une configuration *cis*- β pour le ligand, où les deux pyridines ont des positions distinctes au sein de la structure du complexe. Cette

distinction se répercute pour chaque proton H_o , ce qui amène les résonances associées à se confondre avec la ligne de base.

En outre, le complexe $[Fe^{II}(BPMCN)Cl_2]$, préparé par l'ajout de chlorure de fer(II) au ligand **BPMCN** dans l'acétone, possède un spectre RMN $^1H_{para}$ similaire à celui du complexe $[Fe^{II}(L2diC_2O_2H)Cl](1/2Fe^{II}Cl_4)$. Malgré l'absence de structure cristallographique, la topologie du ligand **BPMCN** peut se déduire à partir d'une expérience consistant à remplacer les ions chlorure par des ions triflate. En effet, Que et coll. ont montré que la différence entre les configurations *cis- α* et *cis- β* pour le complexe $[Fe^{II}(BPMCN)](OTf)_2$ est visible en RMN $^1H_{para}$; pour preuve, le spectre de ce complexe en *cis- β* présente deux fois plus de pics que le même complexe en *cis- α* .¹⁰ De plus, la conversion entre ces deux différentes topologies ne se fait pas, permettant ainsi d'effectuer des caractérisations structurale, spectroscopique et fonctionnelle (propriétés catalytiques) de ces deux isomères. Dans notre cas, le spectre obtenu après la réaction d'échange de contre-ions dans l'acétonitrile deutéré est analogue à celui du complexe $[Fe^{II}(BPMCN)](OTf)_2$ présenté par Que et coll. comme le montre la Figure III-13.¹⁰

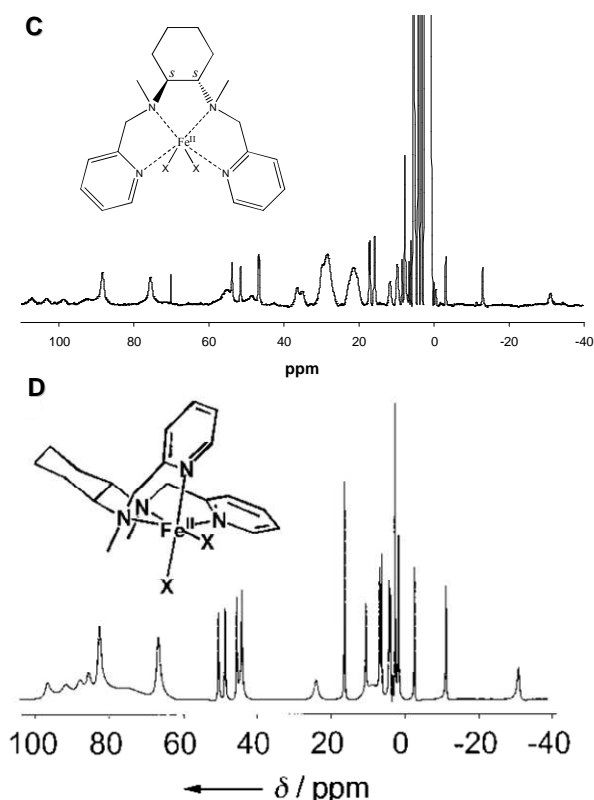


Figure III-13. Comparaison entre le spectre RMN $^1H_{para}$ du complexe $[Fe^{II}(BPMCN)(NCMe)_2](OTf)_2$ issu du complexe $[Fe^{II}(BPMCN)Cl_2]$ par changement de contre-ions (C) et celui présenté par Que et coll. (D).¹⁰
X désigne un ion triflate ou une molécule d'acétonitrile.

La comparaison entre les deux spectres met en exergue leur similarité. En effet, nous observons dans chaque cas un groupe de quatre petites résonances larges situé entre 90 et 110 ppm pour le spectre **C** et entre 80 et 100 ppm pour le spectre **D**. Ces résonances sont précédées de deux pics plus fins et plus intenses. Par contre, sur le spectre **D**, deux doublets de résonances très fines sont situés entre 40 et 60 ppm, tandis que sur le spectre **C**, nous constatons, dans cette région du spectre, une distribution différente composée de trois pics fins et de deux larges. En outre, entre 20 et 40 ppm, le spectre **C** présente trois résonances larges, dont celle vers 35 ppm semble être un doublet, tandis que nous n'observons qu'une seule résonance vers 25 ppm pour le spectre **D**. Par ailleurs, entre 0 et 20 ppm, nous observons une distribution de fines résonances reliées aux protons du cyclohexane et, pour les deux spectres, sont présents un petit pic situé vers -30 ppm ainsi que deux résonances très fines entre -20 et 0 ppm.

Nous pouvons déduire de cette analogie entre les deux spectres, hormis quelques différences, que le ligand **BPMCN** du complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{BPMCN})\text{Cl}_2]$, a une topologie *cis*- β , et donc, que le complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L2diC}_2\text{O}_2\text{H})\text{Cl}](1/2\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$, qui possède un spectre semblable, a son ligand dans une configuration similaire.

Pour ce qui du complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4diC}_2\text{O}_2\text{H})\text{Cl}](1/2\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$, son spectre RMN $^1\text{H}_{\text{para}}$, dont l'allure est semblable à celle du spectre du complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L2diC}_2\text{O}_2\text{H})\text{Cl}](1/2\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$, présente de larges pics entre 0 et 140 ppm, mis à part les deux situés vers 50 ppm (Figure III-12, Spectre **A**). Cet aspect ne peut s'interpréter en termes de topologie du ligand. Ce profil de résonances peut être dû à la présence de l'espèce $\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4^{2-}$ qui, par son paramagnétisme, interférerait avec les protons du ligand. Nous pouvons aussi supposer l'existence d'un échange entre différents modes de coordination des groupements carboxyle.

- *Etude préliminaire par spectroscopie Mössbauer*

Le spectre Mössbauer effectué à basse température sur le complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4diC}_2\text{O}_2\text{H})\text{Cl}](1/2\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$ présente deux doublets en proportion 2/1 dans un domaine de déplacement isomérique d'ions Fe(II) haut spin. L'interprétation de ce spectre reste en suspens car il n'est pas possible aujourd'hui d'attribuer chaque signal au cation métallique car aucune valeur ne corrèle avec des valeurs existantes de complexes déjà décrits.

Néanmoins, nous pouvons nous appuyer sur la proportion des signaux pour proposer une formulation du complexe sous la forme $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4diC}_2\text{O}_2\text{H})\text{Cl}](1/2\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$.

I-2.2. Les complexes de fer(II) avec les ligands à un seul groupement carboxyle L2MeC₂O₂H et L4MeC₂O₂H

- *Synthèse*

Les complexes de fer(II) ont été synthétisés uniquement avec du FeCl₂ en boîte à gants et à température ambiante en utilisant de l'acétone comme solvant. Ils ont été obtenus sous la forme d'une fine poudre jaune suite à l'ajout d'éther au milieu réactionnel et séchage du précipité, sous atmosphère de diazote, après filtration de la solution.

Pour le complexe préparé avec le ligand **L2MeC₂O₂H**, un rendement de 38% a été obtenu. Quant au complexe synthétisé à partir du ligand **L4MeC₂O₂H**, deux équivalents de FeCl₂ ont été utilisés pour améliorer le rendement, sachant que la formation de l'anion Fe^{II}Cl₄²⁻ limite celui-ci à 50%. Ainsi, avons-nous obtenu un rendement de 74%.

Aucune structure cristallographique n'ayant été obtenue, malgré de nombreux essais, nous avons utilisé différentes études spectroscopiques afin de déterminer le mode de coordination de ces deux complexes, ainsi que leur configuration. De plus, les résultats récents d'analyses élémentaires ne nous permettent pas de déterminer avec certitude la structure des complexes de fer. Néanmoins, les études spectroscopiques suivantes nous ont permis de proposer une structure de type [Fe^{II}(LnMeC₂O₂H)](Fe^{II}Cl₄), n = 2 ou 4, pour les deux complexes.

- *Etude par spectrométrie de masse ESI*

Les spectres de masse en mode négatif des deux complexes de fer(II) confirme la présence de l'espèce Fe^{II}Cl₄²⁻, avec la distribution isotopique centrée à m/z 160,9 et l'autre à m/z 197,8.

En mode positif, un fragment correspondant à [L-H+Fe^{II}]⁺ est observé à m/z 423,3 (100%) pour le complexe [Fe^{II}(L2MeC₂O₂H)](Fe^{II}Cl₄), et à m/z 369,3 (100%) pour le complexe [Fe^{II}(L4MeC₂O₂H)](Fe^{II}Cl₄). Les fragments situés à m/z 459,2 (24%) et 405,1 (17%), pour les complexes [Fe^{II}(L2MeC₂O₂H)](Fe^{II}Cl₄) et [Fe^{II}(L4MeC₂O₂H)](Fe^{II}Cl₄), respectivement, sont attribués à [L+Cl+Fe^{II}]⁺.

Le spectre en mode positif du complexe [Fe^{II}(L2MeC₂O₂H)](Fe^{II}Cl₄) est présenté sur la Figure III-14.

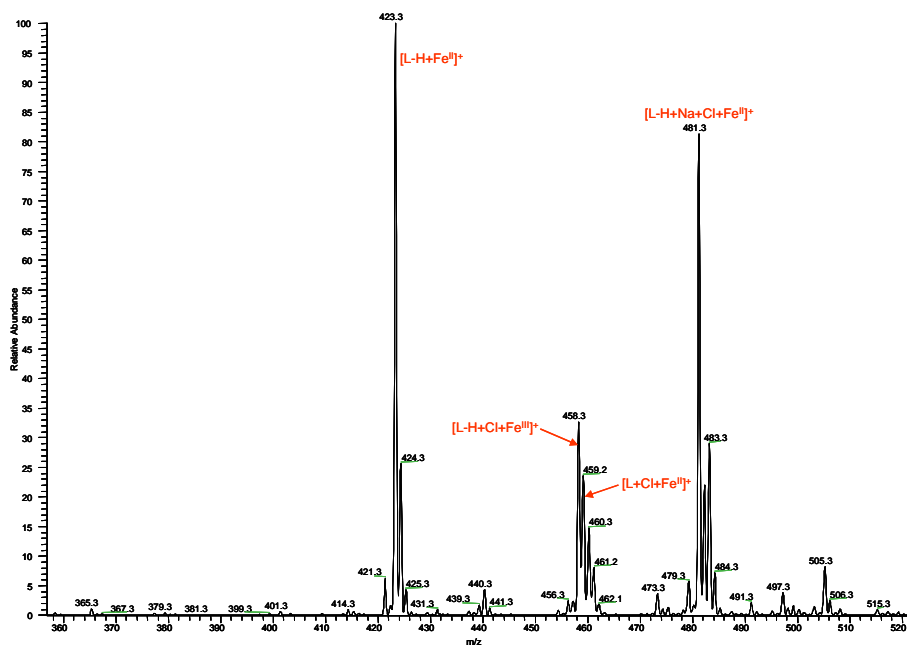


Figure III-14. Spectre de masse en mode positif du complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L2MeC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$ dans l'acétone.

Par conséquent, les données provenant des spectres de masse, en modes positif et négatif, confortent la présence du dication $[\text{LFe}^{\text{II}}]^{2+}$ et de l'anion $\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4^{2-}$.

- *Etude par spectroscopie infrarouge*

Les complexes $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L2MeC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$ et $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$ ont été analysés en spectroscopie IR sous forme solide.

Des différences sont observables entre les deux spectres IR, notamment la présence de deux pics entre 2900 et 3000 cm^{-1} pour le complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L2MeC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$, qui correspondent aux elongations des liaisons C-H du cyclohexane (orange sur la Figure III-15).

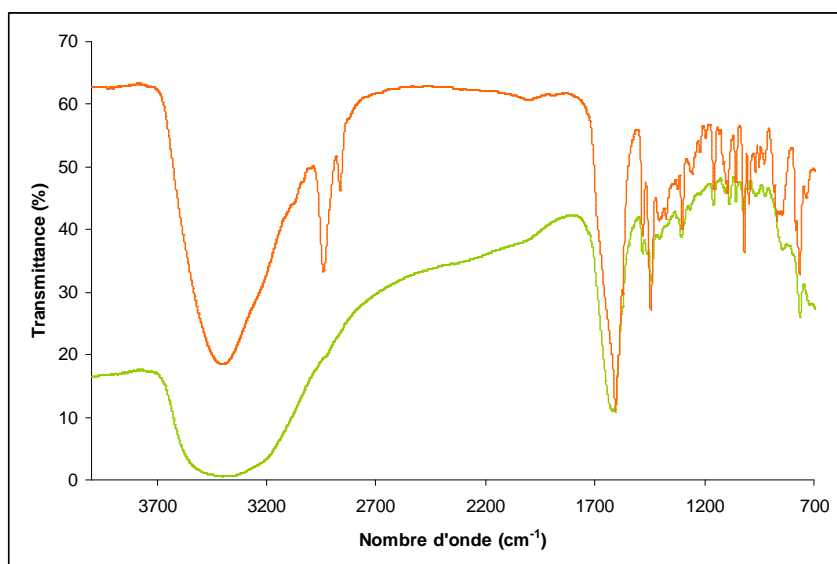


Figure III-15. Spectres infrarouge des complexes $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L2MeC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$ (orange)
 $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$ (vert clair).

Par ailleurs, l'élongation $\nu_{\text{C=Oas}}$ du groupement carboxyle du complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$ (vert clair sur la Figure III-15) se présente sous la forme d'une large bande centrée à 1616 cm^{-1} , tandis que celle du complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L2MeC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$ consiste en une large bande mal définie, avec seulement la vibration $\nu_{\text{C=N}}$ des pyridines clairement décelable à 1604 cm^{-1} . Un agrandissement de cette région pourra nous aider à trouver des éléments de réponse quant au mode de coordination du groupement carboxyle de ces deux complexes (Figure III-16).

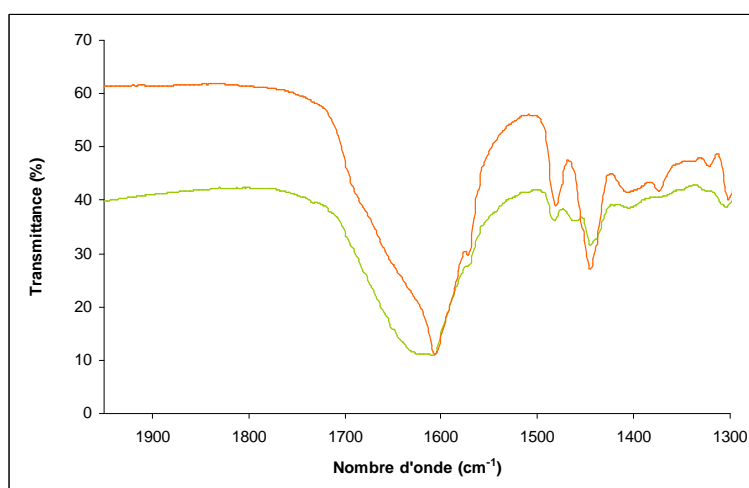


Figure III-16. Agrandissement de la région comprise entre 1400 et 2000 cm^{-1} des spectres infrarouge des complexes $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L2MeC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$ (orange) et
 $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$ (vert clair).

Nous constatons que la bande $\nu_{\text{C=Oas}}$ pour le complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L2MeC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$, est moins large que celle correspondant au complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$, mais celles-ci ont des allures proches dans le sens où la vibration $\nu_{\text{C=N}}$ des pyridines, pour les deux complexes, se situe à un même nombre d'onde, à savoir 1604 cm^{-1} . Par conséquent, les modes de coordination du groupement carboxyle pour les deux complexes sont identiques.

- *Etude par spectroscopie d'absorption UV-visible*

Les spectres UV-visible des complexes $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L2MeC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$ et $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$ ont été effectués à température ambiante en solution dans de l'acétonitrile anhydre et dépourvu de dioxygène selon une concentration de $125\text{ }\mu\text{M}$ (Figure III-17).

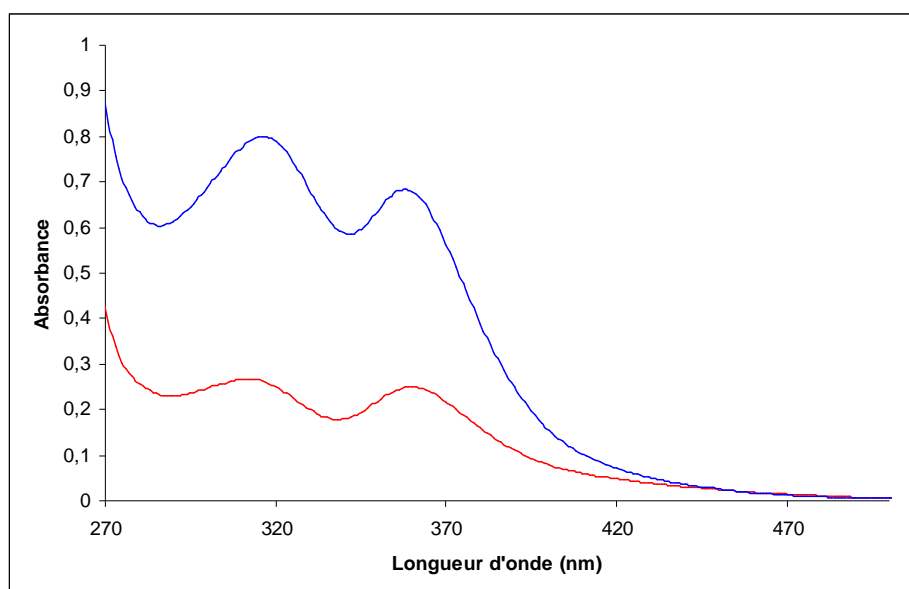


Figure III-17. Spectres UV-visible des complexes $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L2MeC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$ (rouge, $125\text{ }\mu\text{M}$) et $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$ (bleu, $125\text{ }\mu\text{M}$) dans l'acétonitrile dégazé.

La bande d'absorption située à 226 nm ($\epsilon = 29,9\text{ mM}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) pour le complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$ (rouge sur la Figure III-17) et celle située à 225 nm ($\epsilon = 17,3\text{ mM}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) pour le complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L2MeC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$ (bleu sur la Figure III-17) correspondent aux transitions électroniques $\pi \rightarrow \pi^*$ au niveau des pyridines du ligand. Nous observons aussi une bande à 314 nm ($\epsilon = 4,38\text{ mM}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) et 312 nm ($\epsilon = 2,59\text{ mM}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) pour les complexes $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$ et $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L2MeC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$, respectivement, dont l'origine est incertaine. Par ailleurs, les deux spectres montrent une bande située à

360 nm pour les complexes $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$ ($\epsilon = 5,02 \text{ mM}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) et $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L2MeC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$ ($\epsilon = 2,12 \text{ mM}^{-1}.\text{cm}^{-1}$), pouvant être attribuée à une bande de transfert de charge entre l'ion Fe^{II} et les groupements pyridine.

Nous remarquons que la valeur des coefficients d'extinction molaire, reliés à ces deux bandes d'absorption, sont plus grandes pour le complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$ que pour le complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L2MeC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$, ce qui suggère la présence de traces de $\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cl}_4^-$ dans le cas du complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$.

Pour s'assurer de la présence d'ions $\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4^{2-}$ dans ces échantillons, nous avons enregistré le spectre UV-visible du complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L2MeC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$ après que celui-ci ait été exposé pendant quinze minutes à l'air (Figure III-18).

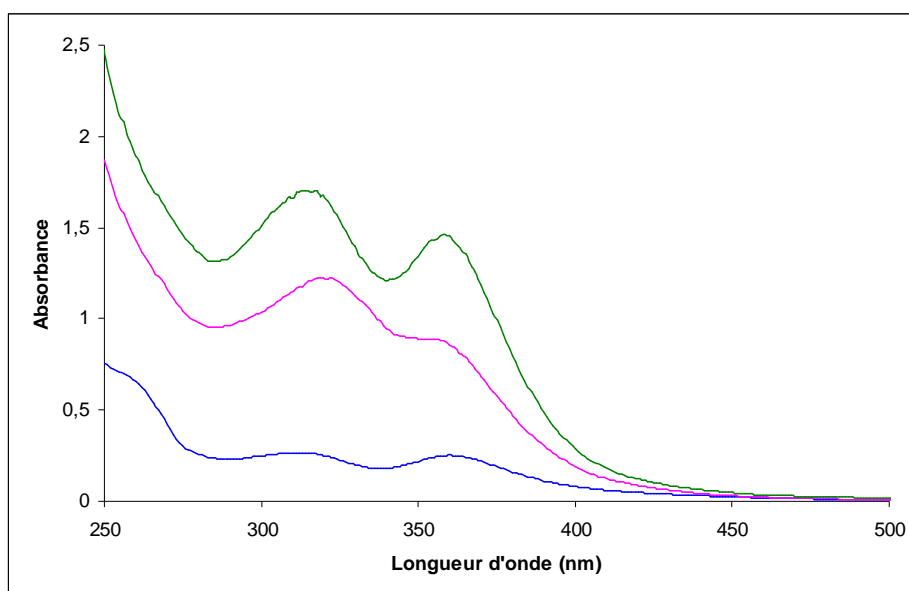


Figure III-18. Comparaison des spectres UV-visible du complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L2MeC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$ (125 µM) en absence (bleu) et en présence de dioxygène à $t = 0$ minute (rose) et à $t = 10$ minutes (vert).

Dès l'exposition du complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L2MeC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$ à l'air, une bande d'absorption à 237 nm ($\epsilon = 9,80 \text{ mM}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) et un épaulement vers 354 nm ($\epsilon = 7,10 \text{ mM}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) apparaissent (rose sur la Figure III-18). Après 10 minutes d'exposition à l'air, le spectre n'évolue plus, présentant deux bandes bien définies à 318 ($\epsilon = 13,6 \text{ mM}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) et 358 nm ($\epsilon = 11,7 \text{ mM}^{-1}.\text{cm}^{-1}$). Ces bandes sont caractéristiques de l'espèce $\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cl}_4^-$.⁹ Ceci confortant la présence de l'ion $\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4^{2-}$. Au cours de ce processus, la variation du coefficient d'extinction molaire est de $8,8 \text{ mM}^{-1}.\text{cm}^{-1}$, ce qui indique l'apparition d'un équivalent de $\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cl}_4^-$. De plus, la proportion de cet anion est double comparée à celle observée pour le

complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L2diC}_2\text{O}_2\text{H})\text{Cl}](1/2\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$ dans les mêmes conditions d'oxygénation (Figure III-11), confirmant ainsi sa formulation.

Les caractéristiques en spectroscopie UV-visible de tous les complexes de fer(II) sont réunies dans le Tableau III-5.

| Complexe | λ_{max} (nm) (ϵ ($\text{mM}^{-1}.\text{cm}^{-1}$)) | | |
|---|---|-------------------|------------|
| $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L2diC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{ClO}_4)_2$ | 257 (8,95) | ~ 342 (1,10) | - |
| $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4diC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{ClO}_4)_2$ | 250 (13,1) | ~ 305 (3,90) | - |
| $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L2diC}_2\text{O}_2\text{H})\text{Cl}](1/2\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$ | 259 (7,22) | 309 (2,66) | 360 (2,06) |
| $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4diC}_2\text{O}_2\text{H})\text{Cl}](1/2\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$ | 254 (5,57) | 307 (2,51) | 359 (1,31) |
| $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L2MeC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$ | 225 (17,3) | 312 (2,59) | 360 (2,12) |
| $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$ | 226 (29,9) | 314 (4,38) | 360 (5,02) |

Tableau III-5. Caractéristiques des complexes de fer(II) en spectroscopie UV-visible.

- *Etude par spectroscopie RMN ^1H paramagnétique*

Les spectres RMN $^1\text{H}_{\text{para}}$ des complexes $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$ et $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L2MeC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$ sont représentés sur la Figure III-19.

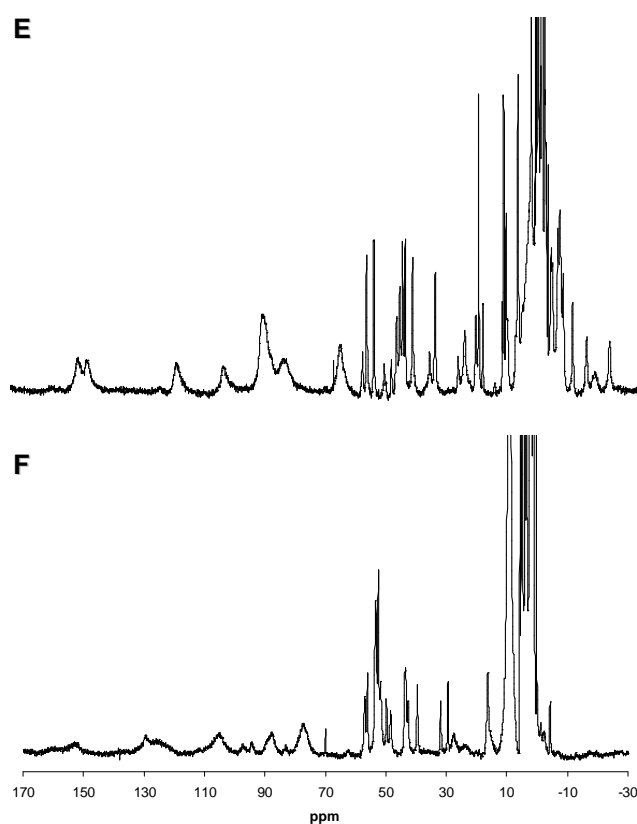


Figure III-19. Spectres RMN $^1\text{H}_{\text{para}}$ des complexes $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L2MeC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$ (**E**) et $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$ (**F**) dans l'acétone deutérée.

Dans le cas du complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L2MeC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$, la distribution des résonances est typique d'une topologie *cis*- β .¹⁰ Chaque résonance est présente sous la forme d'un doublet et la somme de l'intégration des pics donne une valeur de 54, soit deux fois le nombre de protons attendu pour un seul complexe, ce qui atteste de la présence de deux espèces de basse symétrie, dont l'origine s'explique en considérant que, contrairement à la topologie *cis*- α , il n'y a pas d'axe de symétrie C_2 pour la topologie *cis*- β . Ainsi, existe-t-il deux formes inéquivalentes de complexes en *cis*- β , selon la position du groupement méthyle et celle du groupement carboxyle par rapport au reste de la molécule (Schéma III-5).

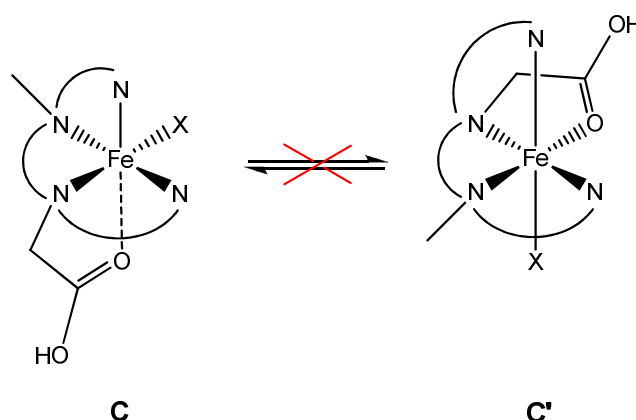


Schéma III-5. Comparaison entre les deux différentes isoméries du complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L2MeC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$. Le terme X désigne un ligand de faible coordination ou une molécule de solvant.

Le Schéma III-5 montre que l'interconversion entre les complexes **C** et **C'** ne peut avoir lieu, et qu'il s'agit donc de deux molécules non superposables. Cette différence repose sur la position relative des groupements méthyle et carboxyle. En conséquence, les molécules **C** et **C'** sont deux régioisomères du complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L2MeC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$. La présence de deux espèces peut aussi s'expliquer par la disposition relative des groupements carboxyle et méthyle selon qu'ils sont *syn* ou *anti*.

Le spectre RMN $^1\text{H}_{\text{para}}$ du complexe $[\text{Fe}(\text{L4MeC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$ présente beaucoup de résonances. Celles situées entre -10 et 70 ppm sont fines, tandis que celles se trouvant au-dessus de 70 ppm sont larges, voire très larges dans la région du spectre comprise entre 110 et 170 ppm. La somme de l'intégration de tous ces pics donne 48 protons, soit un nombre supérieur à deux fois celui attendu pour le complexe seul. Par conséquent, nous sommes en

présence de deux espèces qui pourraient être un mélange de configurations pour le ligand **L4MeC₂O₂H**.

- *Etude préliminaire par spectroscopie Mössbauer*

Le spectre Mössbauer du complexe [Fe^{II}(L4MeC₂O₂H)](Fe^{II}Cl₄) indique une proportion de 1/1 pour le rapport LFe^{II}/Fe^{II}Cl₄ – L étant le ligand **L4MeC₂O₂H** –, ce qui suggère que la coordination d'un ion Fe^{II} par le ligand **L4MeC₂O₂H** aboutit à un complexe dichargé possédant un ion Fe^{II}Cl₄²⁻ comme contre-anion, et donc que le groupement carboxyle reste protoné. Comme précédemment, le spectre ne peut pas être interprété par manque d'information sur la structure élémentaire du composé. Des études complémentaires sont en cours pour pouvoir associer chaque ion métallique à chacun des signaux.

Ainsi, malgré l'absence de structure pour les complexes de fer(II) monosubstitués, nous sommes parvenus à connaître le mode de coordination du groupement carboxyle par les spectroscopies infrarouge et Mössbauer. De plus, la spectrométrie de masse, les spectroscopies d'absorption UV-visible et Mössbauer ont conforté la présence de l'espèce Fe^{II}Cl₄²⁻. Enfin, grâce à la spectroscopie RMN ¹H_{para}, nous avons eu accès à la géométrie de coordination de ces complexes.

En conséquence, l'ensemble de ces données nous a permis de proposer une structure et une configuration pour chacun des complexes, à l'exception de [Fe^{II}(L4MeC₂O₂H)](Fe^{II}Cl₄), dont l'analyse en RMN ¹H_{para} nous a fait suggérer un mélange de deux configurations (Figure III-20).

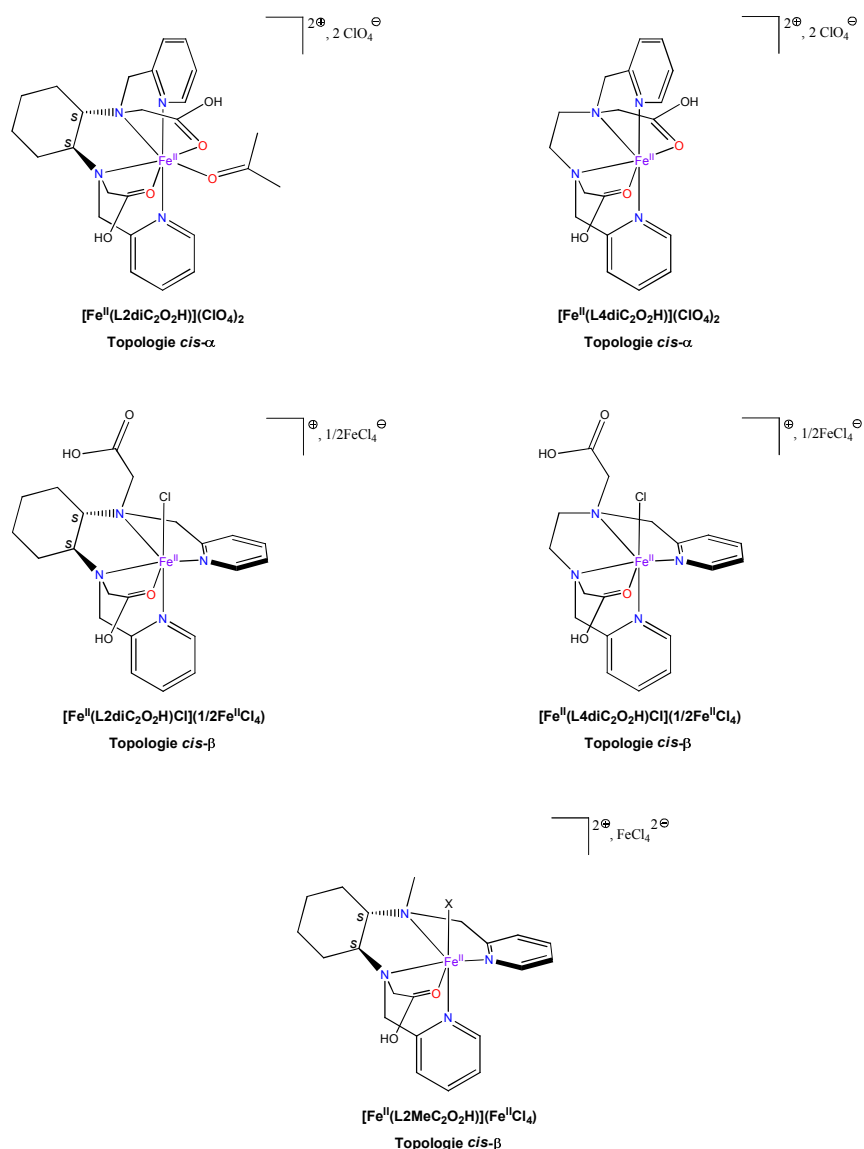


Figure III-20. Structure et configuration des complexes de fer(II) à substituants carboxyle.

En conclusion, nous avons constaté que le remplacement de $\text{Fe}(\text{ClO}_4)_2$ par FeCl_2 pour la synthèse des complexes de fer(II), amenait à une structure imprévue. En effet, il y a une compétition pour la coordination entre les ions chlorure et les groupements carboxyle, même si ceux-ci restent protonés. Il en résulte la formation de l'anion $\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4^{2-}$ issu de la réaction de $\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_2$ avec les deux ions chlorure libérés après la liaison sur l'ion ferreux coordonné par le ligand. Ceci suggère une meilleure aptitude pour les groupements carboxyle à se lier sur l'ion fer(II) que les ions chlorure. Un tel phénomène a été décrit dans la littérature.¹¹

En outre, les nouveaux complexes de fer(II) que nous avons préparés présentent une propriété originale, à savoir la coordination d'un groupement carboxyle du ligand sur l'ion ferreux par le carbonyle.

Une autre particularité de ces complexes réside dans leur synthèse, celle-ci ayant été faite dans l'acétone. En effet, la topologie adoptée par les ligands est dépendante de la source de fer utilisé. La présence d'un anion faiblement coordinant, tel que l'ion perchlorate, amène à la formation de complexes dont le ligand est en *cis-α*, et ce, quelque soit le ligand. Dans le cas des ions chlorure, la topologie prédominante, déduite de l'analyse en RMN $^1\text{H}_{\text{para}}$, est *cis-β*. Il existe toutefois une différence selon les ligands, et pour cause, le motif cyclohexanediamine garantie le maintien de la configuration en solution, tandis qu'un mélange d'isomères semble probable avec les complexes dont le ligand est doté d'un motif éthylènediamine plus flexible.

L'origine de cette propension pour une topologie préférentielle dépendante de la nature des anions reste à découvrir. Nous pouvons proposer qu'en premier lieu, les ions chlorure se lient sur le métal, favorisant une géométrie donnée, avant qu'ils ne soient échangés par les groupements carboxyle et aille se fixer sur FeCl_2 .

I-3. Synthèse et caractérisation des complexes de fer(III)

Les complexes de fer(III) ont été préparés à titre de comparaison avec les complexes de fer(II) dans le but de définir le mode de coordination des groupements carboxyle avec l'avantage de travailler à l'air. De plus, les études menées sur des complexes de fer(III) ont aussi un intérêt qui réside dans le fait que les complexes de fer(II) utilisés pour l'élaboration des hybrides sont manipulés à l'air, aussi deviennent-ils *in fine* des complexes de fer(III).

Tous les complexes de fer(III) ont été synthétisés à partir de chlorure de fer(III) pour éviter la formation de dimères à pont oxo. La préparation de ces complexes a été réalisée à température ambiante en utilisant l'acétone comme solvant.

I-3.1. Les complexes de fer(III) avec les ligands à deux groupements carboxyle $\text{L4diC}_2\text{O}_2\text{H}$ et $\text{L2diC}_2\text{O}_2\text{H}$

- *Synthèse*

Aucune difficulté n'a été rencontrée lors de la synthèse des complexes de fer(III) à partir des ligands **L4diC₂O₂H** et **L2diC₂O₂H**. Ils ont été obtenus sous la forme d'une fine poudre jaune par ajout d'éther au milieu réactionnel, puis séchage du précipité sous pression réduite. Un rendement de 44% a été obtenu pour les deux complexes.

- *Etude par analyse élémentaire*

Les données provenant de l'analyse élémentaire de ces deux complexes de fer(III), ainsi que les formules chimiques qui en découlent, sont présentées dans le Tableau III-6.

| | | % Expérimental | % Théorique | Formule de l'espèce |
|--|----|----------------|-------------|--|
| Complexe synthétisé à partir de L4diC₂O₂H | C | 32,66 | 32,59 | C₁₈H₂₂Cl₅Fe₂N₄O₅ M = 663 g.mol⁻¹ |
| | H | 3,35 | 3,34 | |
| | Cl | 23,96 | 26,72 | |
| | Fe | 16,59 | 16,84 | |
| | N | 8,61 | 8,45 | |
| Complexe synthétisé à partir de L2diC₂O₂H | C | 37,48 | 38,13 | C₂₄H₃₀Cl₄Fe₂N₄O₈ M = 756 g.mol⁻¹ |
| | H | 4,03 | 4,00 | |
| | Cl | 20,18 | 18,76 | |
| | Fe | 14,63 | 14,77 | |
| | N | 7,97 | 7,41 | |

Tableau III-6. Analyse élémentaire des complexes synthétisés à partir des ligands **L4diC₂O₂H** et **L2diC₂O₂H** et du chlorure de fer(III).

Dans les deux cas, nous avons une espèce contenant deux atomes de fer pour un seul ligand. Cela suggère la présence de l'anion $\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cl}_4^-$ contenant un ion ferrique, cette espèce ayant été décrite dans la littérature.^{9,11} Ainsi, pouvons-nous proposer pour ces complexes de fer(III) que les deux groupements carboxyle soient sous forme carboxylate et liés sur l'ion ferrique avec $\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cl}_4^-$ en contre-ion. La formulation pour ces deux complexes serait alors de type $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{LndiC}_2\text{O}_2)](\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cl}_4)$, $n = 2$ ou 4 .

Afin de corroborer ce mode de coordination pour ces complexes de fer(III) et la présence de l'espèce $\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cl}_4^-$, nous avons réalisé différentes études spectroscopiques.

- *Etude par spectrométrie de masse ESI*

La distribution isotopique vers m/z 197,8 correspond à l'espèce $\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cl}_4^-$. Ainsi, la spectrométrie de masse nous confirme sa présence (Figure III-21).

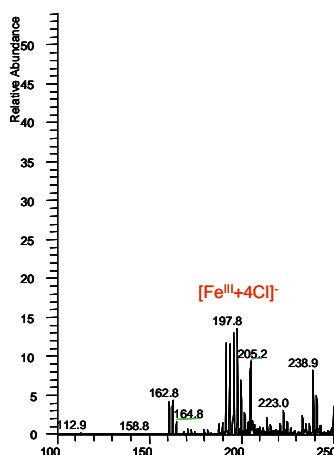


Figure III-21. Spectre de masse de $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{L4diC}_2\text{O}_2)](\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cl}_4)$ en mode négatif dans l'acétone.

Nous observons ce même massif centré à m/z 197,8 pour le complexe $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{L2diC}_2\text{O}_2)](\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cl}_4)$.

Sur la Figure III-22 est représenté le spectre de masse en mode positif du complexe $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{L4diC}_2\text{O}_2)](\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cl}_4)$.

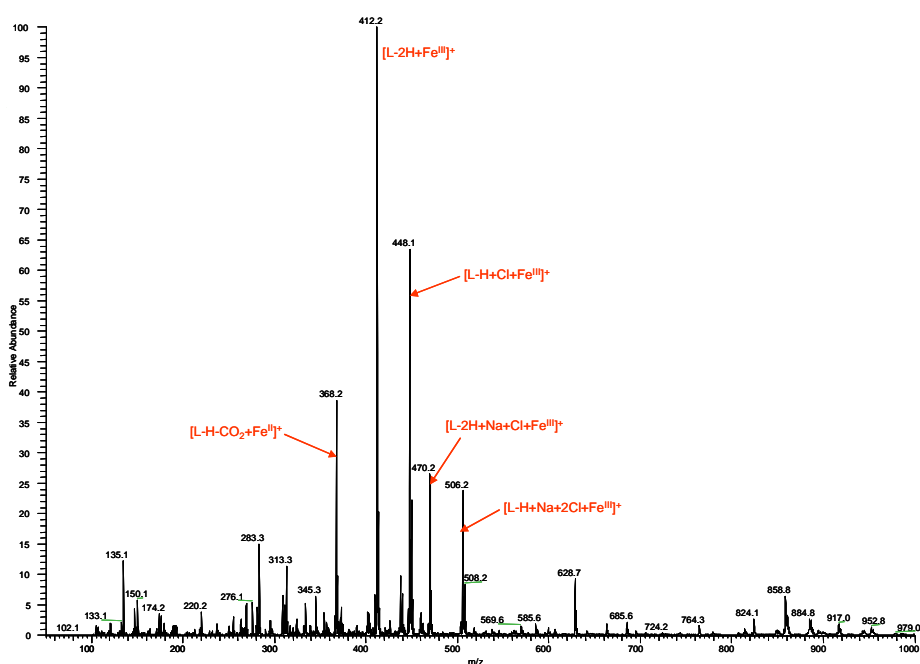


Figure III-22. Spectre de masse en mode positif du complexe $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{L4diC}_2\text{O}_2)](\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cl}_4)$.

Le pic principal à m/z 412,2 (100%) correspond au complexe avec les deux groupements carboxyle déprotonés. La présence d'ion chlorure est détectable par le fragment à m/z 448,1 (63%), reliée au complexe dont un seul groupement carboxyle est déprotoné. Les fragments à m/z 470,2 (26%) et 506,2 (24%) comportent des ions sodium provenant

vraisemblablement de l'appareillage, sachant qu'à aucun moment de la synthèse, le complexe n'a été en présence de ce cation. Ces deux pics montrent aussi un ligand deux ou une fois déprotoné au niveau des groupements carboxyle. Quant au fragment situé à m/z 368,2 (39%), il provient d'une décarboxylation du ligand avec la réduction concomitante de l'ion Fe^{III} en ion Fe^{II} .

Pour ce qui est du complexe $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{L2diC}_2\text{O}_2)](\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cl}_4)$, son spectre de masse en mode positif est présenté sur la Figure III-23.

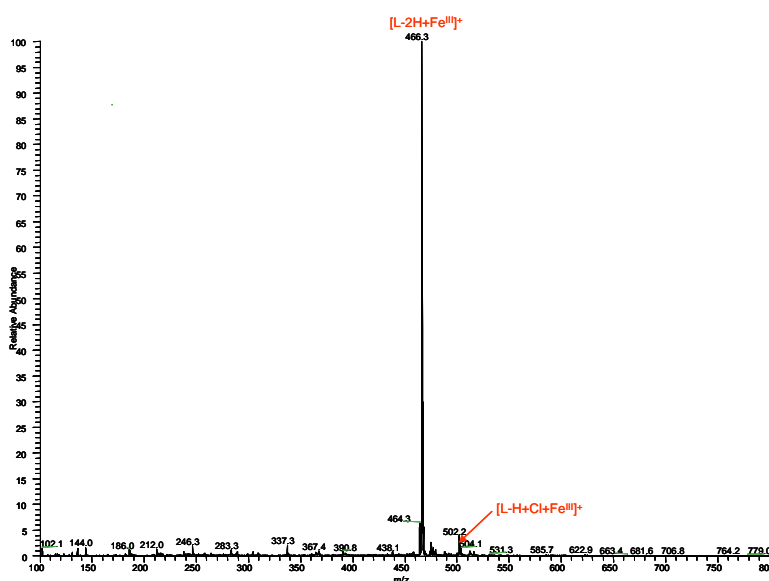


Figure III-23. Spectre de masse en mode positif du complexe $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{L2diC}_2\text{O}_2)](\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cl}_4)$.

Dans le cas du complexe $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{L2diC}_2\text{O}_2)](\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cl}_4)$, nous n'observons que deux fragments à m/z 466,3 (100%) et 502,2 (5%). Le pic principal est attribué au complexe qui possède ses deux groupements carboxyle sous la forme carboxylate, à l'instar du complexe $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{L4diC}_2\text{O}_2)](\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cl}_4)$. Le petit fragment correspond, quant à lui, au complexe n'ayant qu'un groupement carboxyle déprotoné, la deuxième charge négative étant apportée par un ion chlorure.

Par conséquent, les données provenant des spectres de masse en mode positif des complexes $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{L4diC}_2\text{O}_2)](\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cl}_4)$ et $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{L2diC}_2\text{O}_2)](\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cl}_4)$, et principalement le pic principal, sont en accord avec celles de l'analyse élémentaire.

Cependant, nous constatons l'absence de fragment relié à une décarboxylation au niveau du spectre de masse du complexe $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{L2diC}_2\text{O}_2)](\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cl}_4)$, contrairement à celui du complexe $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{L4diC}_2\text{O}_2)](\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cl}_4)$. Ainsi, même si ces réactions de fragmentation ont lieu lors de l'expérience ESI-MS, ceci montre que le complexe, dont le ligand comporte le motif cyclohexanediamine, est plus robuste que celui ayant le motif éthylènediamine.

- *Etude par spectroscopie infrarouge*

La Figure III-24 présente les spectres infrarouge des complexes $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{L4diC}_2\text{O}_2)](\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cl}_4)$ et $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{L2diC}_2\text{O}_2)](\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cl}_4)$ sous forme de poudre.

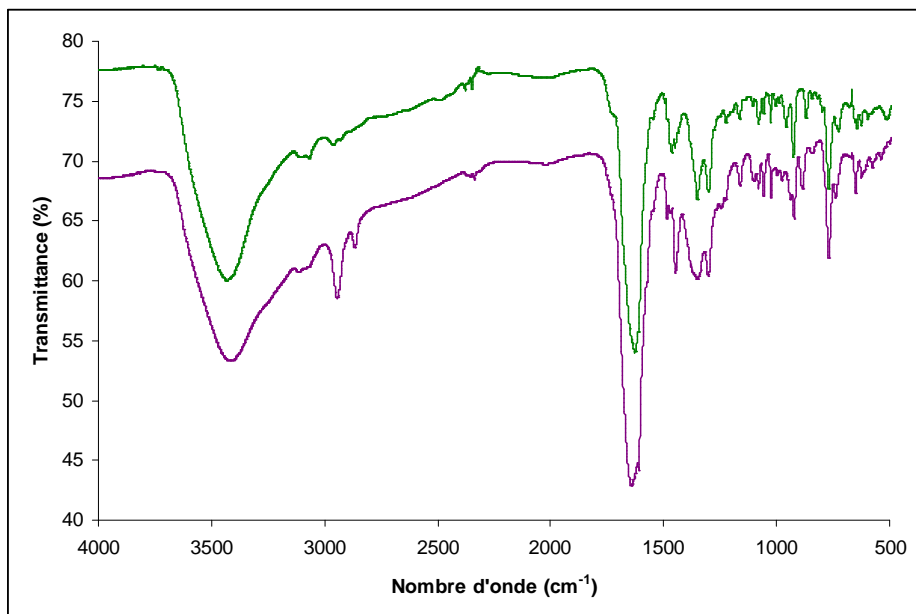


Figure III-24. Spectre infrarouge du complexe $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{L4diC}_2\text{O}_2)](\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cl}_4)$ (vert) et celui du complexe $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{L2diC}_2\text{O}_2)](\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cl}_4)$ (mauve).

Les deux complexes ont des spectres IR similaires, exception faite de la présence de deux pics entre 2850 et 2940 cm^{-1} pour le complexe $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{L2diC}_2\text{O}_2)](\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cl}_4)$ correspondant à l'étirement des liaisons C-H du cyclohexane.

Le spectre IR du complexe $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{L4diC}_2\text{O}_2)](\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cl}_4)$ présente deux résonances à 1635 et 1444 cm^{-1} , attribuées aux élongations asymétrique ($\nu_{\text{C=Oas}}$) et symétrique ($\nu_{\text{C=Os}}$), respectivement. Quant au spectre IR du complexe $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{L2diC}_2\text{O}_2)](\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cl}_4)$, la vibration $\nu_{\text{C=Oas}}$ se situe à 1643 cm^{-1} et la vibration $\nu_{\text{C=Os}}$ à 1445 cm^{-1} .

Grâce aux travaux de Nakamoto, il nous est possible de faire la distinction entre les différents modes de coordination des carboxylates selon la différence entre les deux énergies de vibration, $\Delta\nu = \nu_{\text{C=Oas}} - \nu_{\text{C=Os}}$ (Tableau III-7).¹²

| | $\nu_{\text{C=Oas}} (\text{cm}^{-1})$ | $\nu_{\text{C=Os}} (\text{cm}^{-1})$ | $\Delta\nu (\text{cm}^{-1})$ | Référence |
|--|---------------------------------------|--------------------------------------|------------------------------|------------|
| Bidentate, pontant | 1580 | 1410-1440 | 140-170 | 12 |
| Bidentate, non pontant | 1510-1550 | 1450-1470 | 40-80 | 12 |
| Monodentate | 1600-1725 | 1267-1380 | 220-460 | 12 |
| Fe(TTP)OAc | 1668 | 1259 | 409 | 13 |
| $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{L4diC}_2\text{O}_2)]^+$ | 1635 | 1444 | 191 | Ce travail |
| $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{L2diC}_2\text{O}_2)]^+$ | 1643 | 1445 | 198 | Ce travail |

Tableau III-7. Comparaison des différents modes de vibration de groupements carboxylate.

Les vibrations du carboxylate du complexe Fe(TPP)OAc (TPP = *meso*-tétra-*para*-tolylporphyrine, OAc = acétate) sont consistantes avec le mode de coordination monodentate de l'acétate ($\Delta\nu = 409 \text{ cm}^{-1}$). Dans le cas des complexes $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{L4diC}_2\text{O}_2)](\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cl}_4)$ et $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{L2diC}_2\text{O}_2)](\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cl}_4)$, nous trouvons un $\Delta\nu$ de 191 et 198 cm^{-1} , respectivement, des valeurs plus faibles que celle trouvée pour le complexe Fe(TPP)OAc, mais suggérant tout de même un mode de coordination monodentate pour les carboxylates. En effet, les vibrations $\nu_{\text{C=Oas}}$ se trouvent dans l'intervalle de valeurs reliées à un mode de vibration pour un carboxylate monodentate. Cependant, les vibrations $\nu_{\text{C=Os}}$ se situent entre celles correspondantes à un carboxyle bidentate pontant et celles à un carboxylate bidentate non pontant.

- *Etude par spectroscopie d'absorption UV-visible*

Le spectre UV-visible effectué sur une concentration de 125 μM de complexe $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{L4diC}_2\text{O}_2)](\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cl}_4)$ dans l'acétonitrile, présente deux bandes d'absorption, une à 310 nm ($\epsilon = 10,1 \text{ mM}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) et une autre à 359 nm ($\epsilon = 7,70 \text{ mM}^{-1}.\text{cm}^{-1}$), cette dernière étant caractéristique de l'anion $\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cl}_4^-$.^{9b}

Pour confirmer qu'il s'agit d'une bande de transfert de charge entre l'ion ferrique et les ions chlorure de l'espèce $\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cl}_4^-$, nous avons ajouté du triflate d'argent pour voir la disparition ou non de cette bande (Figure III-25).

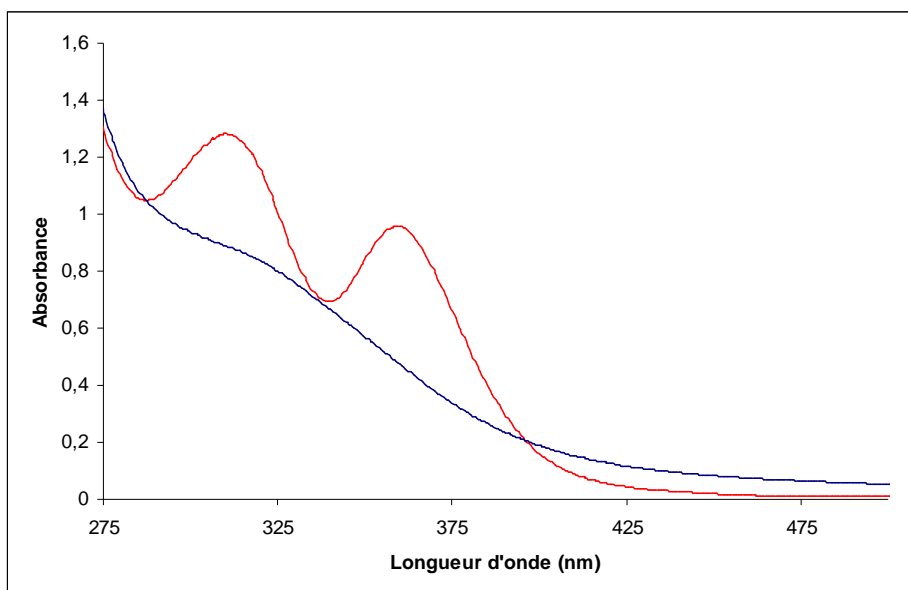


Figure III-25. Spectre d'absorption UV-visible du complexe $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{L4diC}_2\text{O}_2)](\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cl}_4)$ (125 μM) dans l'acétonitrile sans (rouge) et avec (bleu) AgOTf (3 éq.).

L'ajout de triflate d'argent a pour conséquence la disparition de la bande d'absorption située à 359 nm, celle-ci correspond donc effectivement à une bande de transfert de charge entre un ion chlorure et l'ion Fe^{III} de l'espèce $\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cl}_4^-$.

Par ailleurs, suite à l'ajout de triflate d'argent, la bande d'absorption à 310 nm ($\epsilon = 10,1 \text{ mM}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) devient mal définie avec une valeur pour le coefficient d'extinction molaire qui passe de 10,1 à 7,12 $\text{mM}^{-1}.\text{cm}^{-1}$. Ceci est probablement dû à la précipitation de chlorure d'argent, qui gêne la mesure de l'absorbance, le milieu n'étant plus homogène.

- *Etude par spectroscopie RMN ^1H paramagnétique*

Les spectres RMN $^1\text{H}_{\text{para}}$ des complexes $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{L4diC}_2\text{O}_2)](\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cl}_4)$ et $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{L2diC}_2\text{O}_2)](\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cl}_4)$ sont représentés sur la Figure III-26.

Le spectre RMN $^1\text{H}_{\text{para}}$ du complexe $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{L2diC}_2\text{O}_2)](\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cl}_4)$ a été réalisé dans le méthanol deutéré du fait de la faible solubilité dudit complexe dans l'acétonitrile.

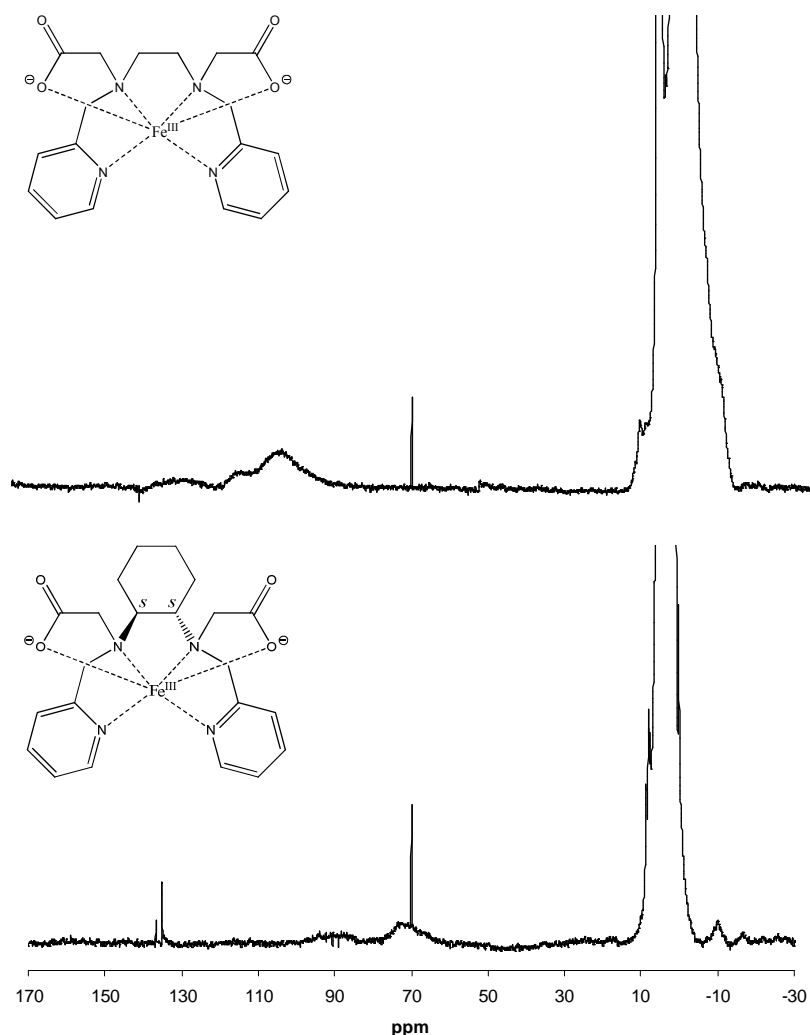


Figure III-26. Spectre RMN $^1\text{H}_{\text{para}}$ du complexe $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{L4diC}_2\text{O}_2)](\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cl}_4)$ dans l'acétonitrile deutéré et celui du complexe $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{L2diC}_2\text{O}_2)](\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cl}_4)$ dans le méthanol deutéré.

Le spectre RMN $^1\text{H}_{\text{para}}$ du complexe $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{L4diC}_2\text{O}_2)](\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cl}_4)$ montre deux pics larges formant un massif dans la zone paramagnétique entre 100 et 140 ppm, ainsi qu'un pic plus fin vers -8 ppm. Quant au complexe $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{L2diC}_2\text{O}_2)](\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cl}_4)$, son spectre RMN $^1\text{H}_{\text{para}}$ ne présente pas de pics bien résolus mais des raies très larges. Cela suggère une configuration différente pour les deux complexes de part la plus grande contrainte stérique imposée par le cyclohexane du complexe $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{L2diC}_2\text{O}_2)](\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cl}_4)$ par rapport au motif éthylènediamine qui apporte une meilleure flexibilité au complexe $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{L4diC}_2\text{O}_2)](\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cl}_4)$.

Nous avons choisi le complexe ayant le spectre le mieux résolu – à savoir le complexe $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{L4diC}_2\text{O}_2)](\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cl}_4)$ – pour faire une expérience avec de l'hexafluorophosphate d'argent, le but étant d'apprécier l'influence d'un sel d'argent sur l'allure du spectre RMN $^1\text{H}_{\text{para}}$ de ce complexe afin de savoir si des ions chlorure sont fixés sur le fer.

La Figure III-27 montre les spectres RMN $^1\text{H}_{\text{para}}$ du complexe $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{L4diC}_2\text{O}_2)](\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cl}_4)$ avant et après ajout d'hexafluorophosphate d'argent.

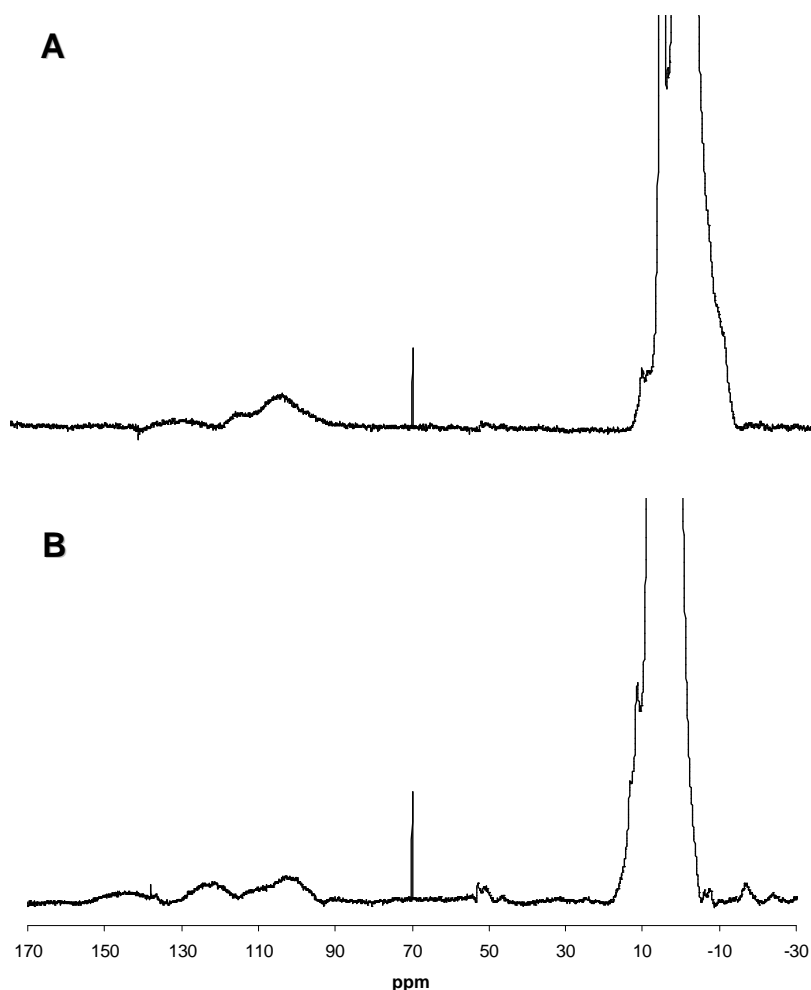


Figure III-27. Spectres RMN $^1\text{H}_{\text{para}}$ du complexe $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{L4diC}_2\text{O}_2)](\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cl}_4)$ sans (A) et en présence (B) de AgPF_6 (5 éq.).

L'ajout d'hexafluorophosphate d'argent n'induit pas de changement drastique au niveau du spectre RMN $^1\text{H}_{\text{para}}$ du complexe $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{L4diC}_2\text{O}_2)](\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cl}_4)$, si ce n'est une meilleure séparation des deux pics situés entre -100 et 130 ppm ainsi que l'apparition d'une résonance large vers 145 ppm (Figure III-27, Spectre B). De plus, nous observons l'apparition d'un doublet centré à 51 ppm et d'une résonance à -17 ppm. Ces pics devaient être beaucoup plus larges et donc confondus avec la ligne de base.

Nous en déduisons que le gain en résolution obtenu au niveau du spectre, suite à l'ajout de AgPF_6 , est dû à la disparition de l'espèce $\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cl}_4^-$. En effet, son paramagnétisme influe probablement sur le spectre RMN $^1\text{H}_{\text{para}}$ du cation $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{L4diC}_2\text{O}_2)]^+$.

En conséquence, les différentes spectroscopies que nous avons utilisées confortent le motif de coordination des complexes à ligands monocarboxylate, ainsi que la présence de l'espèce $\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cl}_4^-$ en contre-ion, proposés suite aux analyses élémentaires.

I-3.2. Le complexe de fer(III) avec le ligand à un seul groupement carboxyle $\text{L2MeC}_2\text{O}_2\text{H}$

- *Synthèse*

La réaction de complexation entre le ligand $\text{L4MeC}_2\text{O}_2\text{Na}$ et du perchlorate de fer(III), dans le méthanol, a conduit à la formation de dimères à pont oxo, comme l'a montré la spectrométrie de masse. Ce problème de dimérisation nous a conduit à ne plus utiliser de sels de perchlorate pour la synthèse d'autres complexes de fer(III). En effet, les ions perchlorate sont de très mauvais ligands des ions ferriques, et laisse ainsi la présence de sites labiles, ce qui facilite la formation de dimères avec des ponts oxo.

En outre, nous avons rencontré des difficultés avec le complexe de fer(III), synthétisé avec le ligand $\text{L4MeC}_2\text{O}_2\text{H}$, pour l'obtenir pur, et ce, quelle que soit la source de fer utilisée. Par contre, nous n'avons pas eu de problème avec le complexe de fer(III) synthétisé avec le ligand $\text{L2MeC}_2\text{O}_2\text{H}$. Celui-ci a été préparé dans l'acétone en présence d'un équivalent de chlorure de fer(III). Après l'ajout d'éther, le précipité a été filtré, puis séché sous pression réduite, pour conduire au complexe sous la forme d'une fine poudre orangée avec un rendement de 39%.

- *Etude par analyse élémentaire*

Le Tableau III-8 montre les résultats de l'analyse élémentaire du complexe de fer(III) synthétisé avec le ligand $\text{L2MeC}_2\text{O}_2\text{H}$ avec les formules chimiques qui en résultent.

| | | % Expérimental | % Théorique | Formule de l'espèce |
|--|----|----------------|-------------|---|
| Complexe synthétisé à partir de $\text{L2MeC}_2\text{O}_2\text{H}$ | C | 36,89 | 36,48 | $\text{C}_{21}\text{H}_{30}\text{Cl}_5\text{Fe}_2\text{N}_4\text{O}_4$ M = 691,4 g.mol⁻¹ |
| | H | 4,13 | 4,37 | |
| | Cl | 26,02 | 25,64 | |
| | Fe | 16,45 | 16,15 | |
| | N | 8,04 | 8,10 | |

Tableau III-8. Données de l'analyse élémentaire du complexe synthétisé à partir du ligand $\text{L2MeC}_2\text{O}_2\text{H}$ et du chlorure de fer(III).

Outre que les données de l'analyse élémentaire nous confortent quant à la pureté du complexe, elles nous indiquent que le centre ferrique est coordiné par le carboxylate et un ion chlorure, avec l'espèce $\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cl}_4^-$ en contre-ion.

Afin de confirmer ces résultats relatifs à la structure de ce complexe de fer(III), différentes études spectroscopiques ont été effectuées.

- *Etude par spectrométrie de masse ESI*

Sur le spectre de masse en mode négatif du complexe $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{L2MeC}_2\text{O}_2)\text{Cl}](\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cl}_4)$, nous observons un groupe de pics autour de m/z 197,8 qui correspond à l'ion $\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cl}_4^-$, ce qui confirme les données de l'analyse élémentaire. Le spectre de masse en mode positif de ce complexe est présenté sur la Figure III-28.

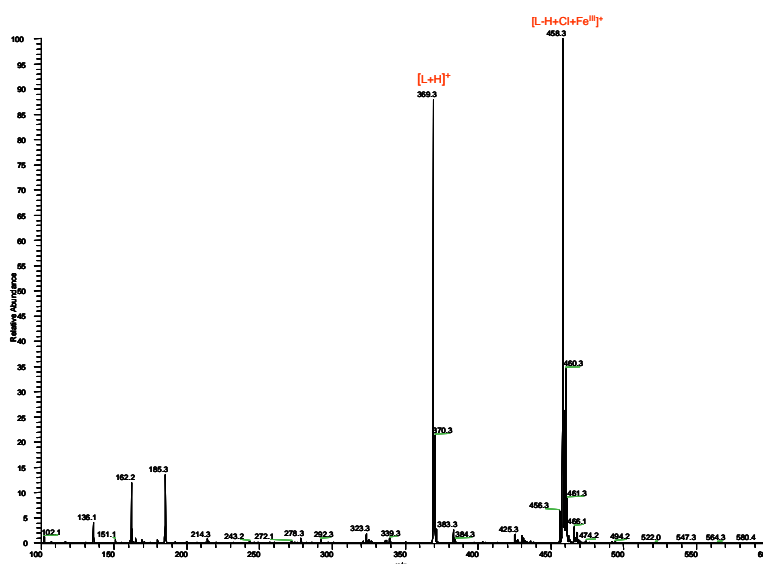


Figure III-28. Spectre de masse en mode positif du complexe $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{L2MeC}_2\text{O}_2)\text{Cl}](\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cl}_4)$ dans l'acétone.

Sur le spectre de masse en mode positif du complexe $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{L2MeC}_2\text{O}_2)\text{Cl}](\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cl}_4)$, nous observons un pic à m/z 369,3 (89%) qui est attribué au ligand libre, et un à 458,3 (100%) correspondant au complexe ayant le groupement carboxyle sous forme carboxylate avec un ion chlorure lié sur l'ion ferrique ou en contre-ion. Ce fragment est en accord avec les données de l'analyse élémentaire.

- *Etude par spectroscopie infrarouge*

Le spectre infrarouge du complexe $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{L2MeC}_2\text{O}_2)\text{Cl}](\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cl}_4)$ sous forme solide est représenté sur la Figure III-29.

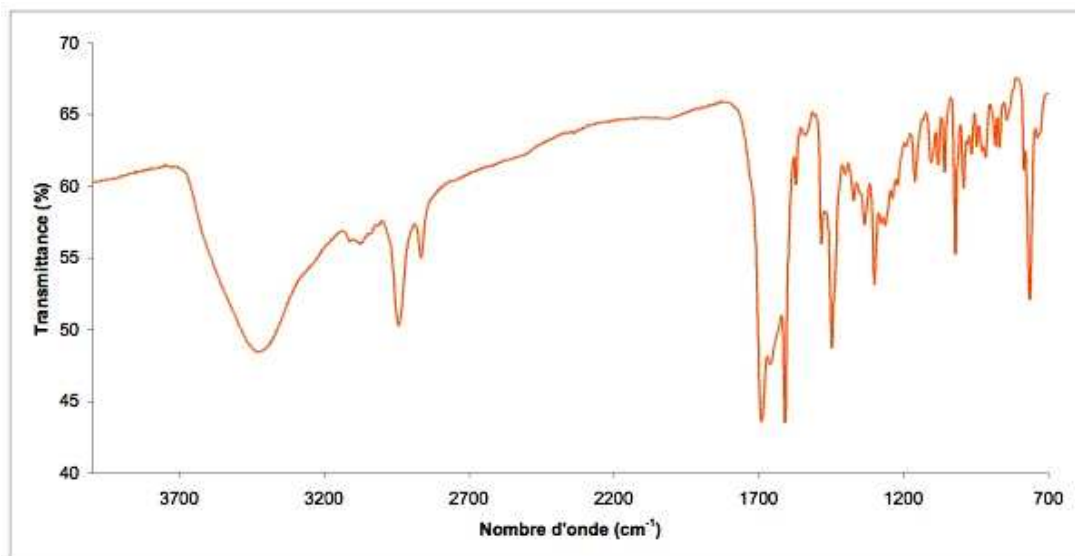


Figure III-29. Spectre infrarouge du complexe $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{L2MeC}_2\text{O}_2)\text{Cl}](\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cl}_4)$.

Les vibrations $\nu_{\text{C=Oas}}$ et $\nu_{\text{C=Os}}$ du groupement carboxylate se situent à 1690 et 1448 cm^{-1} , respectivement. Il apparaît donc clairement que le complexe présente le même mode de coordination, à savoir l'ion Fe^{III} coordonné par le carboxylate et les quatre atomes d'azote du ligand, avec un ion chlorure venant compléter la sphère de coordination de l'ion métallique.

Toutefois, les valeurs des pics qui correspondent à $\nu_{\text{C=Oas}}$ sont proches de 1700 cm^{-1} , valeur reliée à un groupement carboxyle libre. Par conséquent, si ce n'était les données apportées par l'analyse élémentaire du complexe $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{L2MeC}_2\text{O}_2)\text{Cl}](\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cl}_4)$, nous en aurions déduit que les groupements carboxyle étaient protonés et liés à l'ion ferrique par leurs carbonyles ou bien qu'ils étaient libres. La spectroscopie infrarouge réalisée sur le complexe $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{L2MeC}_2\text{O}_2)\text{Cl}](\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cl}_4)$ est donc en désaccord avec l'analyse élémentaire. En conséquence, d'autres analyses spectroscopiques sont nécessaires à réaliser pour confirmer ou infirmer les données de l'analyse élémentaire.

- *Etude par spectroscopie d'absorption UV-visible*

Le spectre UV-visible du complexe $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{L2MeC}_2\text{O}_2)\text{Cl}](\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cl}_4)$ a été réalisé à température ambiante dans l'acétonitrile à une concentration de 125 μM (Figure III-30).

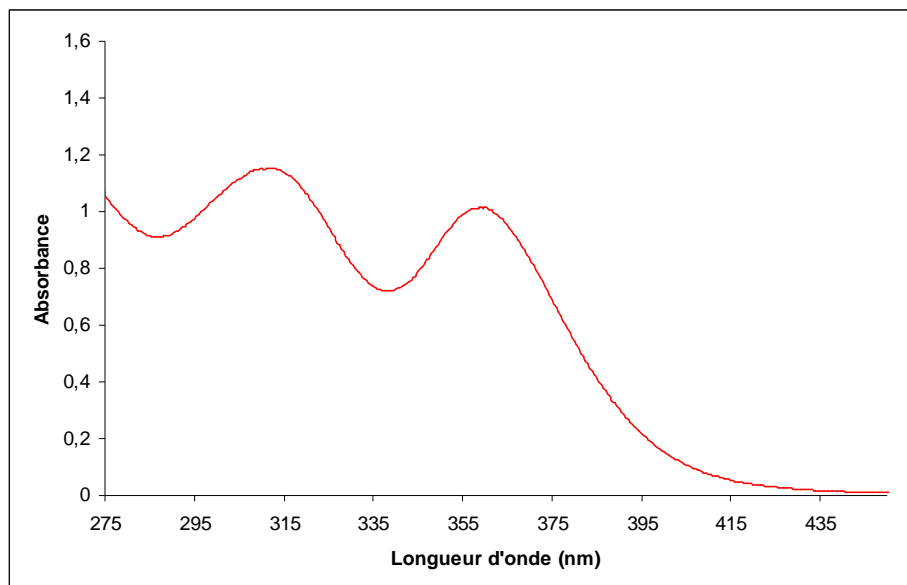


Figure III-30. Spectre d'absorption UV-visible du complexe $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{L2MeC}_2\text{O}_2)\text{Cl}](\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cl}_4)$ (125 μM) dans l'acétonitrile.

Le spectre présente une bande d'absorption à 310 nm ($\epsilon = 9,33 \text{ mM}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) correspondant à une transition électronique entre l'ion Fe^{III} et les atomes d'azote des pyridines. De même, observons-nous une bande d'absorption située à 360 nm ($\epsilon = 8,10 \text{ mM}^{-1}.\text{cm}^{-1}$). Nous supposons que cette bande d'absorption correspond au transfert de charge d'un ion chlorure vers l'ion Fe^{III} au niveau du complexe et de l'ion $\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cl}_4^-$.

En conséquence, la spectroscopie d'absorption UV-visible conforte les données de l'analyse élémentaire selon lesquelles un ion chlorure est lié sur l'ion métallique et l'espèce $\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cl}_4^-$ est en contre-ion.

- *Etude par spectroscopie RMN ^1H paramagnétique*

Sur la Figure III-31 est représenté le spectre RMN $^1\text{H}_{\text{para}}$ du complexe $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{L2MeC}_2\text{O}_2)\text{Cl}](\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cl}_4)$.

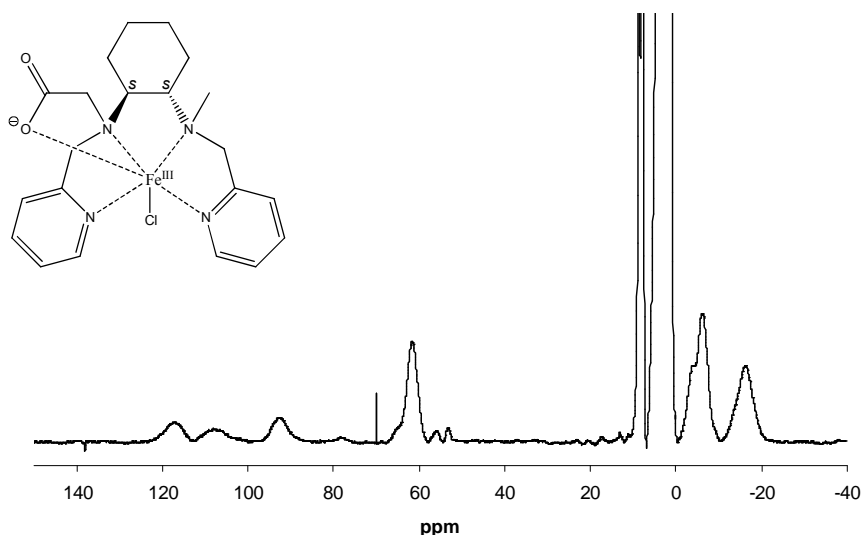


Figure III-31. Spectre RMN $^1\text{H}_{\text{para}}$ du complexe $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{L2MeC}_2\text{O}_2)\text{Cl}](\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cl}_4)$ dans l'acétonitrile deutéré.

Le spectre RMN $^1\text{H}_{\text{para}}$ du complexe $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{L2MeC}_2\text{O}_2)](\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cl}_4)$ présente trois pics, dont un relativement large, entre 50 et 70 ppm, ainsi que trois pics larges entre -30 et -2 ppm. Dans la zone comprise entre 80 et 130 ppm, nous observons trois larges résonances. Le petit nombre de pics au niveau du spectre RMN $^1\text{H}_{\text{para}}$ montre que celui-ci est symétrique.

En conséquence, la structure des complexes de fer(III) et la présence de l'ion $\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cl}_4^-$ déduites des analyses élémentaires sont corroborées par les différentes spectroscopies utilisées. Malheureusement, contrairement aux complexes de fer(II), nous ne pouvons pas connaître la configuration des différents complexes de fer(III) par l'étude de la spectroscopie RMN $^1\text{H}_{\text{para}}$. Aussi, sommes-nous seulement en mesure de proposer le mode de coordination des groupements carboxylate desdits complexes (Figure III-32).

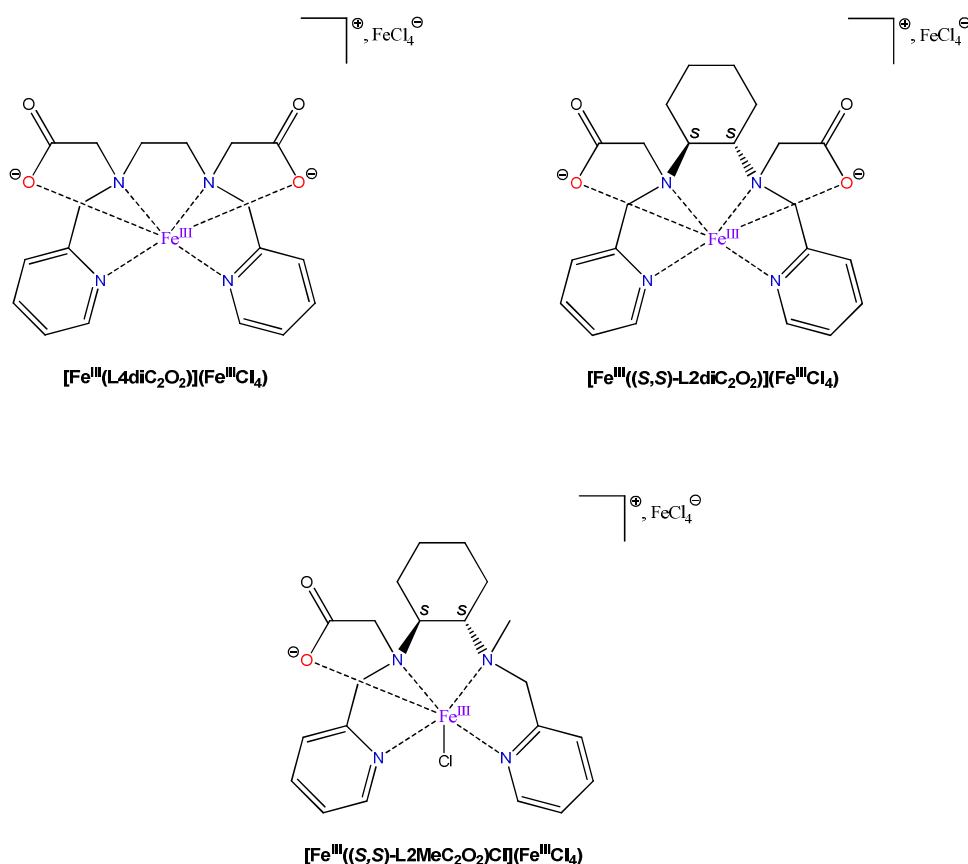


Figure III-32. Structure des complexes de fer(III) déduite de l'analyse élémentaire et de différentes études spectroscopiques.

II- Activité des complexes en catalyse d'oxydation

II-1. Catalyse d'époxydation

Les complexes de fer(II) comprenant les modifications que nous avons apportées au niveau des ligands **BPMEN** et **BPMC**N, ont été testés en oxydation de différents alcènes dans l'acétonitrile avec le peroxyde d'hydrogène comme oxydant. Nous avons mené ces études catalytiques selon une proportion cat/oxydant/substrat de 1/300/200, les mêmes que celles utilisées par Que et coll.^{2d} dans le but de comparer l'activité de nos complexes à celle de ceux ayant pour ligands **BPMEN** et **BPMC**N (Figure III-33). Ces conditions devraient aussi permettre d'apprécier la stabilité de ces catalyseurs (200 cycles catalytiques sont possibles).

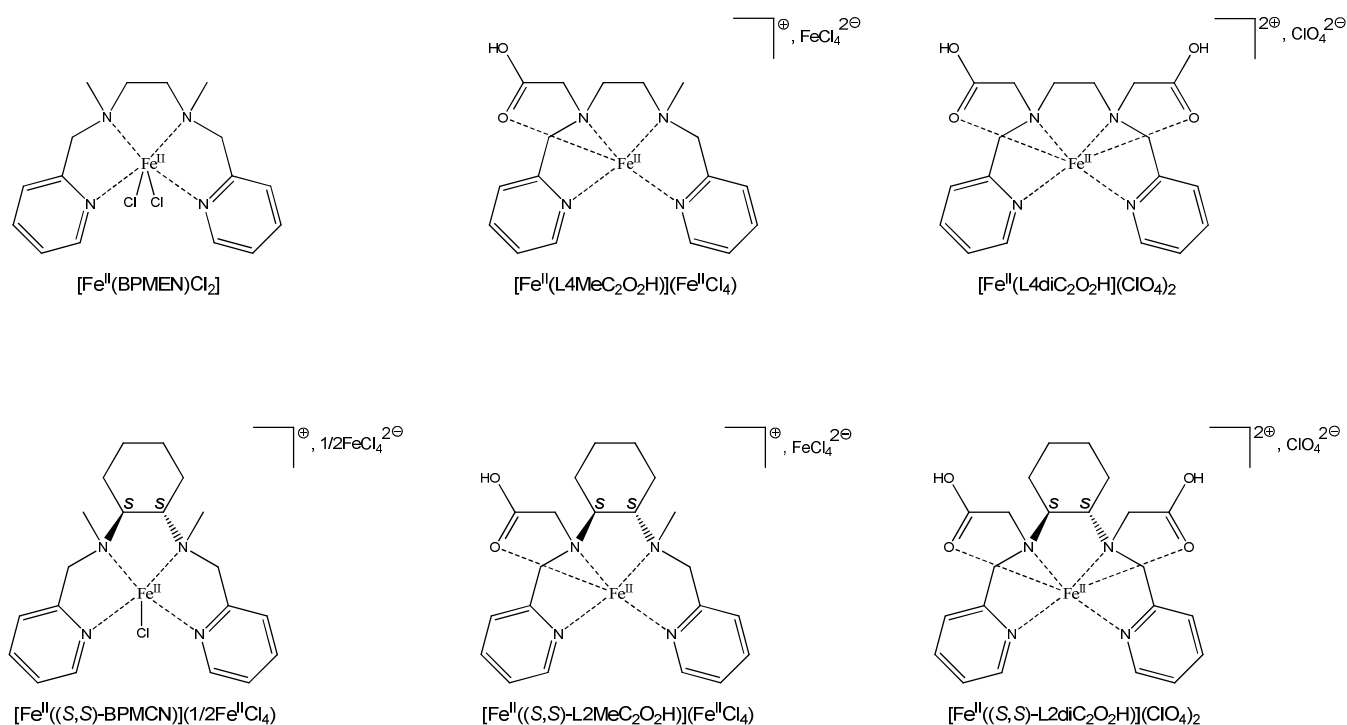


Figure III-33. Les différents complexes de fer(II) utilisés pour les études de catalyse d'époxydation.

Les propriétés catalytiques des complexes de fer(II), présentés sur la Figure III-33, ont été étudiées en époxydation sur trois différents alcènes, et ce, en température ambiante et à l'air (Schéma III-6).

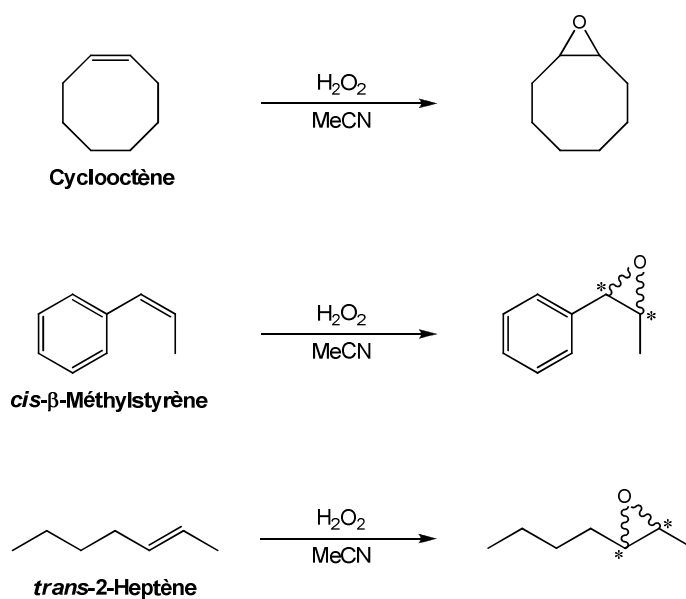


Schéma III-6. Les différentes réactions d'époxydation pour l'étude de l'activité catalytique des complexes de fer(II). Les centres stéréogènes sont représentés par un astérisque.

Le peroxyde d'hydrogène a été ajouté par addition lente et goutte à goutte, pendant 30 minutes en utilisant un pousse-seringue, afin de diminuer sa dismutation, ou en un seul coup.

Un large excès de triflate d'argent a été ajouté au milieu catalytique avant l'ajout de l'oxydant dans le cas des complexes ayant été préparés avec du chlorure de fer(II), sachant que pour la plupart, ils ont en contre-ion l'espèce $\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4^{2-}$. La présence d'ions chlorure pourrait alors bloquer les positions labiles des complexes au cours de l'oxydation, alors que les ions triflate sont des ligands facilement échangeables permettant la coordination du peroxyde d'hydrogène et de l'acide acétique.^{2d} Pour preuve, en absence de sels d'argent, seulement une faible formation d'époxyde a été détectée pendant l'expérience de catalyse avec les complexes $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{BPMEN})\text{Cl}_2]$, $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$ ou $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L2MeC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$. Dans ces deux derniers cas, l'anion $\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4^{2-}$ n'est pas inactif et pourrait interagir avec le cation ferreux. En outre, les sels de fer employés lors de la préparation des complexes de fer(II), à savoir les perchlorate et chlorure de fer(II), se sont révélés être inactifs pour la formation d'époxyde, sous les conditions que nous avons utilisées, même si une légère conversion a été mesurée. Ces expériences de contrôle nous ont garanti que les résultats sont bien attribués aux complexes de fer synthétisés.

Par ailleurs, les propriétés catalytiques des complexes ont été étudiées en fonction de la présence d'acide acétique et d'acide perchlorique. En effet, Jacobsen et coll.^{2c} et plus tard Que et coll.^{2d} ont montré que la présence d'acide acétique dans le milieu catalytique a pour conséquence une augmentation de l'efficacité catalytique et de la sélectivité en faveur de l'époxydation.

Il est possible que de l'acide acétique se combine avec du peroxyde d'hydrogène pour aboutir à de l'acide peracétique et, que celui-ci soit l'oxydant. L'ajout d'acide peracétique, en absence de complexe, induit la formation d'une faible quantité d'époxyde. Par conséquent, même si cette expérience ne permet pas de savoir qui du peroxyde d'hydrogène ou de l'acide peracétique est le véritable oxydant, elle montre que la présence d'un complexe est nécessaire pour qu'il y ait catalyse.

II-1.1. Condition avec pousse-seringue

II-1.1.1. Avec le cyclooctène comme substrat

Les résultats de la catalyse en époxydation, au bout de 30 minutes, effectuée avec les complexes de fer(II), destinés à être insérés dans NikA, sont présentés sur le Tableau III-9.

| Complexe | MeCN ^a | | + 100 éq. AcOH | | MeCN/AcOH 1/2 | | + 1 éq. HClO ₄ | |
|---|----------------------|------------------------|----------------|-----------|---------------|-----------|---------------------------|-----------|
| | Rdt (%) ^b | Conv. (%) ^c | Rdt (%) | Conv. (%) | Rdt (%) | Conv. (%) | Rdt (%) | Conv. (%) |
| Aucun | 0 | 4 | 1 | 20 | 1 | 20 | n.d. ^d | n.d |
| [Fe ^{II} (BPMEN)Cl ₂] | 32 | 68 | 95 | 98 | 92 | 98 | 44 | 85 |
| [Fe ^{II} (L4MeC ₂ O ₂ H)](Fe ^{II} Cl ₄) | 27 | 68 | 82 | 97 | 31 | 51 | 29 | 66 |
| [Fe ^{II} (L4diC ₂ O ₂ H)](ClO ₄) ₂ | 3 | 37 | 3 | 98 | 4 | 37 | n.d | n.d |
| [Fe ^{II} (BPMCNC)Cl](1/2Fe ^{II} Cl ₄) | 56 | 92 | 64 | 98 | 63 | 100 | 38 | 90 |
| [Fe ^{II} (L2MeC ₂ O ₂ H)](Fe ^{II} Cl ₄) | 37 | 78 | 59 | 95 | 80 | 99 | 43 | 91 |
| [Fe ^{II} (L2diC ₂ O ₂ H)](ClO ₄) ₂ | 1 | 1 | 1 | 1 | 4 | 16 | n.d | n.d |

Condition : cat/H₂O₂/substrat = 1/300/200. Temps réactionnel = 30 minutes. ^a Condition sans acide acétique.

^b Rendement en époxyde. ^c Conversion. ^d n.d = non déterminé.

Tableau III-9. Résultats de la catalyse d'époxydation du cyclooctène effectuée par les complexes de fer(II) avec l'ajout de H₂O₂ par pousse-seringue dans l'acétonitrile.

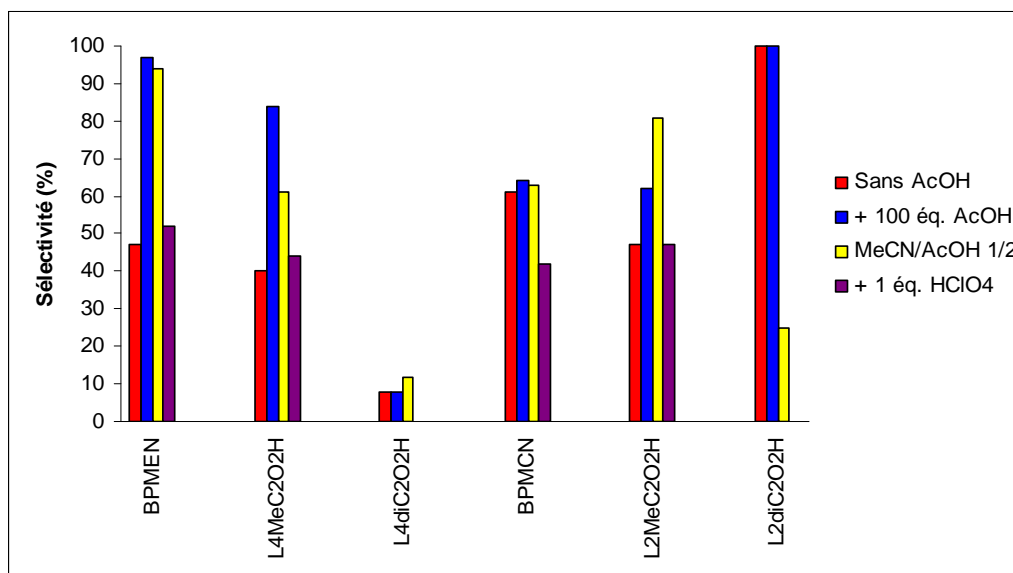


Figure III-34. Sélectivité pour l'époxyde en fonction des différents complexes de fer(II) et de différentes conditions d'acidité.

En absence de complexe ou d'oxydant, aucun époxyde n'a été détecté. Toutefois, dans certains cas, le substrat est partiellement converti. C'est particulièrement le cas en présence d'acide acétique où une conversion de 20% a été observée (Tableau III-9).

Lorsqu'il n'y a pas d'acide acétique dans le milieu catalytique, les complexes dont les ligands contiennent deux groupements carboxyle, sont quasiment inactifs en époxydation du cyclooctène, mais nous observons une conversion de 37% pour le complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4diC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{ClO}_4)_2$. Des rendements en époxyde significatifs sont atteints avec les complexes ayant des ligands pourvus d'un seul groupement carboxyle (27 et 37% pour $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$ et $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L2MeC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$, respectivement). Les complexes $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{BPMEN})\text{Cl}_2]$ et $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{BPMCNCI})(1/2\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)]$ ont une réactivité supérieure à leurs analogues carboxylés (Rdt = 32 et 56%, respectivement) (Tableau III-9 et Figure III-34).

Dans nos conditions, la sélectivité vis-à-vis de la production d'époxyde peut atteindre 50% (Figure III-34), bien qu'une faible quantité de diol ait été détectée avec des rendements ne dépassant pas 2%. Etant donné que les conversions sont dans un intervalle de 37 à 92%, selon le complexe utilisé, il se forme des produits de nature inconnue que nous ne décelons pas en GC. Ainsi, des analyses en RMN ^1H ont été effectuées sur les bruts de réaction extraits avec du dichlorométhane. Ces études nous ont confirmé la présence d'époxyde et de diol comme produits majoritaires, même si le second est en quantité très faible (~ 3%). Aucun autre produit d'oxydation, à l'exemple du diacide octane-1,8-dioïque, n'a pu être détecté, ce qui suggère une décomposition du substrat via un processus radicalaire.

La présence d'acide acétique induit généralement une augmentation de la conversion, même dans le cas où deux groupements carboxyle sont présents. Ainsi, une conversion de 99% avec une sélectivité de 81% avec le complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L2MeC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$ dans le mélange acétonitrile/acide acétique 1/2 est observée. Ces résultats sont partagés avec le complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{BPMEN})\text{Cl}_2]$, mais l'activité et la sélectivité du complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{BPMCNCI})(1/2\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)]$ ne sont pas affectées dans ces conditions.

L'addition d'un équivalent de proton, apporté par l'acide perchlorique, n'a quasiment pas d'effet sur l'activité des catalyseurs portant des groupements carboxyle, avec toutefois une légère augmentation de la sélectivité, excepté pour le complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{BPMCNCI})(1/2\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)]$, où elle passe de 61 à 42%. Il en résulte que l'ajout de protons n'est pas suffisant pour parvenir à l'activation des catalyseurs constatée avec l'acide acétique. Ainsi, ces résultats suggèrent que l'acide acétique se lie sur l'espèce oxydante, comme proposé par Que et coll.^{2d}

La substitution d'un groupement méthyle par un groupement carboxyle n'a pas le même impact selon la nature du ligand. L'ajout d'un groupement carboxyle sur le ligand **BPMC**N a pour conséquence une baisse du rendement en époxyde (56 contre 37%) et de la conversion (92 contre 78%), tandis que l'ajout d'un groupement carboxyle sur le ligand **BPM**EN n'altère quasiment pas l'activité catalytique, puisque le rendement passe de 32 à 27% et la conversion reste à 68%. En revanche, la présence de deux groupements carboxyle altère fortement la réactivité des catalyseurs en fonction de la nature du ligand. Pour preuve, bien que le complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4diC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{ClO}_4)_2$ ne produise que 3% d'époxyde, la conversion est de 37%. Par contre, pour le complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L2diC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{ClO}_4)_2$, il n'y a aucune réactivité. Ces résultats impliquent une coordination de ces groupements sur le centre métallique, empêchant ainsi l'entrée de l'oxydant dans la sphère de coordination. Des résultats similaires ont été obtenus avec un système à deux groupements carboxylate.¹⁴

En conséquence, l'existence d'au moins un site labile est requis pour qu'il y ait une activité catalytique et rende compte en partie de la chimiosélectivité de la réaction d'oxydation de l'alcène. En effet, la production préférentielle d'époxyde au détriment de diol est caractéristique des complexes de fer à ligand pentadentate, compte tenu de l'absence de deux sites labiles en *cis* sur le fer, empêchant la formation d'un intermédiaire de type fer(III)-hydroperoxo, avec l'hydroperoxyde en mode de coordination "side-on", ou de type fer(V)(oxo)(hydroxo), responsable de la *cis*-dihydroxylation.¹⁵

II-1.1.2. Avec le *trans*-2-heptène comme substrat

Les complexes possédant le cyclohexane comme copule chirale, ont été testés en catalyse d'époxydation d'un alcène prochiral (Tableau III-10).

| Complexe | MeCN | | + 100 éq. AcOH | | MeCN/AcOH 1/2 | |
|---|---------|---------------------|----------------|--------|---------------|--------|
| | Rdt (%) | ee (%) ^a | Rdt (%) | ee (%) | Rdt (%) | ee (%) |
| $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{BPMC})\text{Cl}](1/2\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$ | 31 | 14 | 52 | 38 | 42 | 30 |
| $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L2MeC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$ | 18 | 17 | 29 | 30 | 40 | 34 |

Condition : cat/H₂O₂/substrat = 1/300/200. Temps réactionnel = 30 minutes. ^a Excès énantiomérique déterminé en GC avec une colonne chirale de type TA.

Tableau III-10. Catalyse d'époxydation énantiosélective du *trans*-2-heptène effectuée par les complexes $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{BPMC})\text{Cl}](1/2\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$ et $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L2MeC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$ avec l'ajout de H₂O₂ par pousse-seringue dans l'acétonitrile.

L'ajout d'acide acétique a un effet significatif sur la réactivité du complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{BPMCN})\text{Cl}](1/2\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$, que nous n'avons pas observé avec le cyclooctène comme substrat. En effet, le rendement en époxyde est de 31 à 52% sans et avec 100 équivalents d'acide acétique, respectivement, pour tomber à 42% dans le mélange acétonitrile/acide acétique 1/2. Lorsqu'un groupement méthyle est substitué par un groupement carboxyle au niveau du ligand, l'activité catalytique est moindre avec un rendement de 18% pour la production d'époxyde. Néanmoins, la présence d'acide acétique a aussi un effet favorable sur la réactivité du catalyseur, étant donné que le rendement passe à 29%, suite à l'addition de 100 équivalents d'acide acétique, et atteint 40% en condition acétonitrile/acide acétique 1/2. Sous cette dernière condition, nous n'observons pas de chute de la réactivité contrairement au complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{BPMCN})\text{Cl}](1/2\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$.

Pour ce qui est de l'énantiosélectivité, nous avons obtenu des résultats surprenants, à savoir l'influence de l'acide acétique sur la valeur des excès énantiomériques. En effet, l'ajout de 100 équivalents d'acide acétique fait passer l'excès énantiomérique de 14 à 38% et de 17 à 34% pour les complexes $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{BPMCN})\text{Cl}](1/2\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$ et $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L2MeC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$, respectivement, et dépend faiblement de la quantité d'acide présent.

L'ensemble de ces résultats suggère que l'espèce oxydante est différente selon la présence ou non d'acide acétique, mais aussi de la nature du ligand.

II-1.1.3. Avec le *cis*- β -méthylstyrène comme substrat

Les rendements obtenus lors de l'époxydation du *cis*- β -méthylstyrène ne dépassent pas 12%, et ce, aussi bien avec le complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{BPMEN})\text{Cl}_2]$ que les complexes $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$ et $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L2MeC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$. Ce phénomène, décrit par Que et coll.,^{2d} reflète la nature électrophile des catalyseurs. En effet, l'électrophilie de ces complexes de fer(II) a pour conséquence une très bonne activité catalytique vis-à-vis des doubles liaisons riches en électrons, comme pour le cyclooctène. Au contraire, l'oxydation du *cis*- β -méthylstyrène, qui possède une double liaison plus pauvre en électron que celle du cyclooctène, dû à l'effet mésomère accepteur du cycle aromatique, va donner de moins bons rendements en époxyde. Quant à l'époxydation du *cis*- β -méthylstyrène catalysée par le complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L2MeC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$ avec 100 équivalents d'acide acétique, le rendement est seulement de 4 et 2% dans le mélange acétonitrile/acide acétique 1/2.

C'est pour cette raison que nous n'avons pas mené d'investigations dans la catalyse d'époxydation de ces alcènes avec les complexes dont les ligands sont pourvus de deux

groupements carboxyle, sachant qu'ils ne donnent quasiment aucun époxyde avec le cyclooctène comme substrat.

II-1.2. Condition sans pousse-seringue

Les travaux de Que et coll. ont montré que l'ajout de peroxyde d'hydrogène en une seule fois n'induit pas la dismutation de cet oxydant dans un mélange acétonitrile/acide acétique 1/2, et que la conversion du cyclooctène en époxyde, dans ces conditions, est presque totale au bout de 30 minutes.

Ainsi, avons-nous voulu savoir si ceci reste vrai pour les complexes que nous avons synthétisés (Tableau III-11).

| Substrat | Complexe | Qté en AcOH | Rdt (%) | TON | ee (%) |
|---------------------|---|---------------|---------|-----|--------|
| Cyclooctène | Aucun | 0 éq. | 1 | - | - |
| Cyclooctène | Aucun | 100 éq. | 1 | - | - |
| Cyclooctène | Aucun | MeCN/AcOH 1/2 | 1 | - | - |
| Cyclooctène | [Fe ^{II} (BPMEN)Cl ₂] | 0 éq. | 13 | 26 | - |
| Cyclooctène | [Fe ^{II} (BPMEN)Cl ₂] | 100 éq. | 80 | 160 | - |
| Cyclooctène | [Fe ^{II} (BPMEN)Cl ₂] | MeCN/AcOH 1/2 | 58 | 116 | - |
| Cyclooctène | [Fe ^{II} (L4MeC ₂ O ₂ H)](Fe ^{II} Cl ₄) | 0 éq. | 12 | 24 | - |
| Cyclooctène | [Fe ^{II} (L4MeC ₂ O ₂ H)](Fe ^{II} Cl ₄) | 100 éq. | 12 | 24 | - |
| Cyclooctène | [Fe ^{II} (L4MeC ₂ O ₂ H)](Fe ^{II} Cl ₄) | MeCN/AcOH 1/2 | 14 | 28 | - |
| Cyclooctène | [Fe ^{II} (L2MeC ₂ O ₂ H)](Fe ^{II} Cl ₄) | MeCN/AcOH 1/2 | 94 | 188 | - |
| Cyclooctène | [Fe ^{II} (L2diC ₂ O ₂ H)](ClO ₄) ₂ | MeCN/AcOH 1/2 | 5 | 10 | - |
| <i>t</i> -2-Heptène | [Fe ^{II} (BPMCNCN)Cl](1/2Fe ^{II} Cl ₄) | MeCN/AcOH 1/2 | 54 | 108 | 27 |
| <i>t</i> -2-Heptène | [Fe ^{II} (L2MeC ₂ O ₂ H)](Fe ^{II} Cl ₄) | MeCN/AcOH 1/2 | 60 | 120 | 38 |

Condition : cat/H₂O₂/substrat = 1/300/200. Temps réactionnel = 30 minutes.

Tableau III-11. Catalyse d'époxydation effectuée par les complexes de fer(II) avec l'ajout de H₂O₂ sans pousse-seringue dans l'acétonitrile.

Les résultats présents dans le Tableau III-11 attestent de nouveau de l'inefficacité des complexes, dont les ligands ont deux groupements carboxyle, comme le montre le complexe [Fe^{II}(L2diC₂O₂H)](ClO₄)₂, où un rendement de seulement 5% en époxyde est obtenu en condition acétonitrile/acide acétique 1/2.

L'addition de peroxyde d'hydrogène en un seul coup, en absence d'acide acétique, lors de l'époxydation du cyclooctène catalysée par le complexe [Fe^{II}(L4MeC₂O₂H)](Fe^{II}Cl₄),

aboutit à un rendement en époxyde du même ordre de grandeur qu'avec le complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{BPMEN})\text{Cl}_2]$ (12 et 13%, respectivement). Ce résultat nous montre que la présence d'un seul groupement carboxyle, dans ces conditions, n'affecte pas l'activité du catalyseur.

Toutefois, contrairement au cas où l'oxydant est ajouté avec un pousse-seringue, l'ajout d'acide acétique n'induit pas d'augmentation de la réactivité du complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$ puisque le rendement reste à 12% et atteint 14% dans le mélange acétonitrile/acide acétique 1/2. Nous avons par contre une forte activité catalytique avec le complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L2MeC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$, où le rendement en époxydation atteint 94% en condition acétonitrile/acide acétique 1/2. Ainsi, avons-nous dans ce cas une autre illustration de la différence entre les propriétés catalytiques de ces deux complexes.

Dans le cas où le substrat est le *trans*-2-heptène, les complexes $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{BPMCNC})\text{Cl}](1/2\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$ et $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L2MeC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$ présentent une réactivité et une énantiosélectivité proches, montrant l'absence d'effet de la substitution d'un groupement méthyle au niveau du ligand **BPMCNC** par un groupement carboxyle, du moins sous ces conditions. Par ailleurs, le mode d'addition de l'oxydant n'a aucune influence sur la valeur des excès énantiomériques obtenus en condition acétonitrile/acide acétique 1/2. En effet, nous obtenons respectivement des excès énantiomériques de 30 et 27% avec et sans pousse-seringue avec le complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{BPMCNC})\text{Cl}](1/2\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$, et des excès énantiomériques de 34 et 38% avec le complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L2MeC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$ avec et sans pousse-seringue, respectivement. Ces effets suggèrent, dans les deux cas, que nous sommes en présence de la même espèce oxydante.

Globalement, les rendements obtenus, lorsque le peroxyde d'hydrogène est ajouté d'un coup, sont moindres que ceux obtenus en utilisant un pousse-seringue pour l'addition de l'oxydant, ceci est particulièrement visible pour le complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$. Ces résultats mettent en évidence, comme ceux auparavant, une différence dans les caractéristiques fonctionnelles entre les complexes dont les ligands possèdent un motif éthylènediamine et ceux qui ont un motif cyclohexanediamine.

En conséquence, l'ensemble des données obtenues suite à l'étude de la réactivité des complexes de fer(II), destinés à être insérés dans NikA, en catalyse d'époxydation, nous montre que dans chaque cas, l'acide acétique a un effet positif sur le rendement en époxyde et la conversion. Cet effet est moins marqué pour le complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{BPMCNC})\text{Cl}](1/2\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$.

Quant à la sélectivité, l'impact de l'acide acétique est bien plus notable sur la série des complexes à motif éthylènediamine que sur celle des complexes à motif cyclohexanediamine.

Le rôle de l'acide acétique est relativement difficile à évaluer pour ces complexes de fer. Il a été proposé dans la littérature que l'acide acétique assiste la rupture hétérolytique de l'intermédiaire fer(III)-hydroperoxo, généralement accepté comme étant l'étape-clé dans la génération d'une espèce de type fer-oxo à haut degré d'oxydation dans le cycle catalytique des cytochromes P450 (Chapitre I, Schéma I-1). Dans notre cas, l'assistance par un proton doit être relayée par les groupements carboxyle ou l'acide acétique, ce dernier déplaçant le carboxyle au niveau de la sphère de coordination de l'ion ferrique (Schéma III-7).

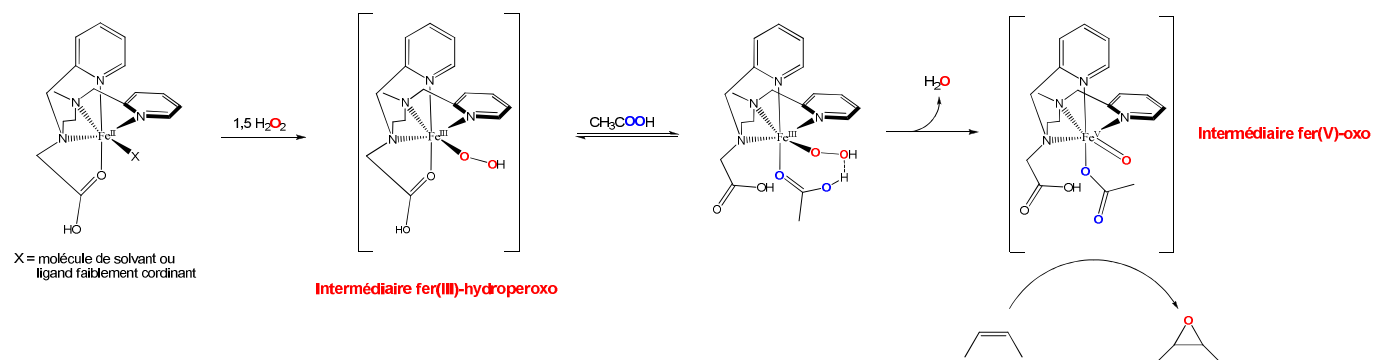


Schéma III-7. Mécanisme proposé pour le rôle de l'acide acétique dans l'époxydation catalysée par les complexes contenant un ligand doté d'un groupement carboxyle.

Il faut aussi prendre en considération le fait que l'acide acétique dirigerait la sélectivité de la réaction d'oxydation d'un alcène en faveur de l'époxydation en restant lié à l'ion Fe^{V} , ce qui permet de ne transférer qu'un seul atome d'oxygène, contrairement à l'espèce $\text{HO-Fe}^{\text{V}}=\text{O}$.^{2d} De plus, l'absence d'effet lors de l'ajout d'un équivalent de proton suggère que le groupement carboxyle est lié sur le fer. Par conséquent, l'échange entre ce groupement et l'acide acétique est probablement moins favorable dans le cas des complexes possédant au niveau des ligands le motif cyclohexanediamine comparé à celui des complexes dont les ligands sont pourvus du motif éthylènediamine, étant donné le peu d'influence de l'acide acétique dans le premier cas.

II-2. Catalyse de sulfoxydation

A notre connaissance, les complexes mononucléaires de fer(II) non hémique possédant le motif de coordination N_2Py_2 , n'ont jamais été testés en catalyse d'oxydation sur les thioéthers. Il nous est donc paru intéressant de mener des études catalytiques sur les complexes que nous avons synthétisés dans le cadre de l'oxydation de tels substrats.

II-2.1. En milieu organique

Pour ces expériences, nous n'avons utilisé que les catalyseurs que nous avons préparés sans comparer leur activité à celle des complexes $[Fe^{II}(BPMEN)Cl_2]$ et $[Fe^{II}(BPMCNC)Cl_2]$. En effet, nous avons eu comme priorité de tester les complexes carboxylés pour établir une comparaison entre leur activité et celle des hybrides résultant de leur incorporation dans NikA.

Nous avons travaillé avec le thioanisole qui sert de substrat de référence dans les autres études de catalyse de sulfoxydation avec les hybrides (Schéma III-8).

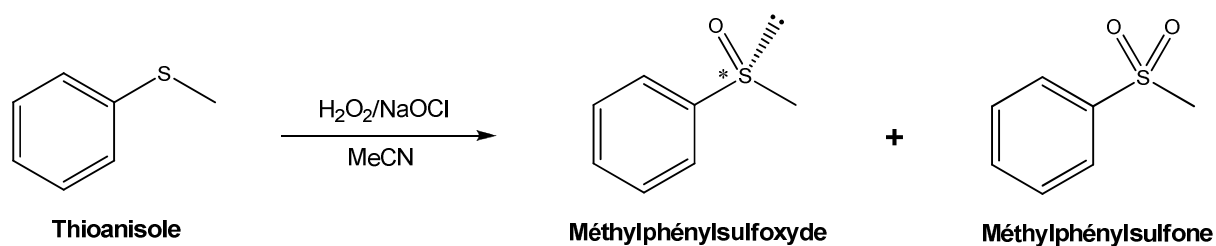


Schéma III-8. Réaction d'oxydation du thioanisole pour l'étude de l'activité catalytique des complexes de fer(II) que nous avons synthétisés. Le centre stéréogène du sulfoxyde est désigné par un astérisque.

Tous les résultats provenant des expériences en catalyse d'oxydation du thioanisole, au bout de 15 minutes, avec les complexes $[Fe^{II}(L4diC_2O_2H)](ClO_4)_2$ et $[Fe^{II}(L2MeC_2O_2H)](Fe^{II}Cl_4)$, sont présentés sur le Tableau III-12.

| Complexe | [Ox] | Pousse-seringue | Rdt _{SO} (%) ^a | Rdt _{SO2} (%) ^b | Chimiosélectivité (%) ^c | TON _{SO} ^d |
|--|-------------------------------|-----------------|------------------------------------|-------------------------------------|------------------------------------|--------------------------------|
| Aucun | H ₂ O ₂ | + | 1 | 0 | 100 | - |
| Aucun | H ₂ O ₂ | - | 3 | 7 | -40 | - |
| Aucun | NaOCl | - | 6 | 0 | 100 | - |
| [Fe ^{II} (L4diC ₂ O ₂ H)](ClO ₄) ₂ | H ₂ O ₂ | + | 12 | 2 | 71 | 24 |
| [Fe ^{II} (L4diC ₂ O ₂ H)](ClO ₄) ₂ | H ₂ O ₂ | - | 8 | 0,5 | 88 | 16 |
| [Fe ^{II} (L4diC ₂ O ₂ H)](ClO ₄) ₂ | NaOCl | - | 6 | 0 | 100 | 12 |
| [Fe ^{II} (L2MeC ₂ O ₂ H)](Fe ^{II} Cl ₄) ^e | H ₂ O ₂ | + | 19 | 5 | 58 | 38 |

Condition : cat/oxydant/substrat = 1/300/200 dans l'acétonitrile. Temps réactionnel = 15 minutes.

^a Rendement en sulfoxyde. ^b Rendement en sulfone. ^c Chimiosélectivité = [(Rdt_{SO} - Rdt_{SO2})/(Rdt_{SO} + Rdt_{SO2})] × 100. ^d Nombre de cycle catalytique vis-à-vis de la production de sulfoxyde. ^e Ajout d'un excès de AgOTf.

Tableau III-12. Résultats des tests catalytiques d'oxydation du thioanisole réalisés avec certains complexes de fer(II) dans l'acétonitrile en utilisant H₂O₂ ou NaOCl comme oxydants.

Il ressort des données présentes sur le Tableau III-12 que les complexes de fer(II), que nous voulons incorporer dans NikA, ne sont pas très actifs en sulfoxydation du thioanisole. L'ajout de peroxyde d'hydrogène par pousse-seringue reste la condition qui mène aux meilleurs rendements en sulfoxyde (12 et 19% avec [Fe^{II}(L4diC₂O₂H)](ClO₄)₂ et [Fe^{II}(L2MeC₂O₂H)](Fe^{II}Cl₄), respectivement), bien que l'ajout en un seul coup aboutisse à des résultats proches, comme l'illustre le complexe [Fe^{II}(L4diC₂O₂H)](ClO₄)₂, avec lequel un rendement de 8% est obtenu. Il est intéressant de noter que dans ce cas, le complexe [Fe^{II}(L2MeC₂O₂H)](Fe^{II}Cl₄) n'est pas beaucoup plus performant que le complexe [Fe^{II}(L4diC₂O₂H)](ClO₄)₂, contrairement à la catalyse d'alcènes.

Nous avons aussi utilisé l'hypochlorite de sodium (NaOCl), un oxydant plus fort que le peroxyde d'hydrogène, dans l'espoir d'obtenir de meilleurs rendements. L'hypochlorite de sodium ne peut être ajouté par pousse-seringue au risque d'une obturation de l'aiguille, du fait que cet oxydant ait tendance à se décomposer rapidement en chlorure de sodium. Malheureusement, l'emploi d'hypochlorite de sodium ne donne pas de meilleurs rendements ; en effet, les résultats sont identiques à ceux obtenus en absence de complexe (Rdt = 6%).

Cependant, il existe une influence du catalyseur sur la réaction d'oxydation du thioanisole, et plus particulièrement sur la chimiosélectivité. En effet, en présence du complexe [Fe^{II}(L4diC₂O₂H)](ClO₄)₂, la chimiosélectivité est en faveur du sulfoxyde, ce qui se traduit par des rendements de 8 et 0,5% pour le sulfoxyde et la sulfone, respectivement, alors qu'elle est inversée au profit de la sulfone dans le cas de la réaction non catalysée. Par

conséquent, le complexe induit une chimiosélectivité en faveur du sulfoxyde au détriment de la sulfone.

II-2.2. En milieu aqueux

Nous avons testé les complexes $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$, $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4diC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{ClO}_4)_2$, $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L2MeC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$ et $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L2diC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{ClO}_4)_2$ en milieu aqueux avec l'hypochlorite de sodium comme oxydant pour deux raisons. D'une part, nous avons constaté que cet oxydant permet l'obtention de bons rendements en sulfoxydes, en milieu aqueux, alors qu'avec le peroxyde d'hydrogène, quasiment aucun composé d'oxydation n'est produit. D'autre part, les expériences de catalyse effectuées sur les hybrides se font en milieu aqueux. En conséquence, pour établir une bonne comparaison entre la réactivité des complexes seuls et celle des oxygénases artificielles, il est préférable de réaliser des tests de catalyse de sulfoxydation en milieu aqueux en utilisant, dans les deux cas, le même oxydant.

Nous avons utilisé du tampon pour se trouver dans les mêmes conditions de catalyse réalisée avec les hybrides. En effet, ceux-ci sont constitués d'une partie protéique et sont donc manipulés en milieu tamponné, comme pour toute enzyme. Nous expliciterons le rôle du tampon dans la partie consacrée aux hybrides. Le détail du mode opératoire pour ces expériences de catalyse, en milieu tamponné, est présenté dans la Partie expérimentale.

Les données provenant des tests de catalyse d'oxydation du thioanisole en phase aqueuse, au bout de 15 minutes, avec les complexes originaux du laboratoire, sont présentées dans le Tableau III-13.

Lors de ces tests catalytiques, aucun sel d'argent n'a été ajouté étant donné que les études de catalyse se sont faites en milieu tamponné. Nous avons constaté, au préalable, que l'espèce $\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4^{2-}$ est solvatée ou hydrolysée en phase aqueuse. De plus, dans ces conditions, le chlorure de fer(II) ne donne lieu à aucune oxydation.

| Complexe | Rdt _{SO} (%) | Rdt _{SO₂} (%) | Chimiosélectivité (%) | TON _{SO} |
|---|-----------------------|-----------------------------------|-----------------------|-------------------|
| Aucun | 4 | 10 | -43 | - |
| [Fe ^{II} (L4MeC ₂ O ₂ H)](Fe ^{II} Cl ₄) | 24 | 23 | 2 | 122 |
| [Fe ^{II} (L4diC ₂ O ₂ H)](ClO ₄) ₂ | 47 | 42 | 6 | 240 |
| [Fe ^{II} (L2MeC ₂ O ₂ H)](Fe ^{II} Cl ₄) | 24 | 35 | -19 | 122 |
| [Fe ^{II} (L2diC ₂ O ₂ H)](ClO ₄) ₂ | 16 | 33 | -35 | 82 |

Condition : cat/NaOCl/substrat = 1/1224/510 dans tampon HEPES (10 mM, pH 7).
Temps réactionnel = 15 minutes.

Tableau III-13. Résultats de la catalyse d'oxydation du thioanisole effectuée par les complexes de fer(II) dans le tampon HEPES (10 mM, pH 7) avec NaOCl comme oxydant.

Dans ces conditions, l'efficacité catalytique des complexes est un peu meilleure qu'en milieu organique, avec toutefois une moins bonne chimiosélectivité en faveur du sulfoxyde. Le complexe [Fe^{II}(L2diC₂O₂H)](ClO₄)₂ est le moins efficace et le moins chimiosélectif avec un rendement en sulfoxyde de 16% – un rendement proche de celui obtenu sans complexe – et un important phénomène de suroxydation qui se traduit par une chimiosélectivité de -35%. Quant au complexe [Fe^{II}(L4diC₂O₂H)](ClO₄)₂, c'est le catalyseur avec lequel le meilleur rendement en sulfoxyde (47%) et la meilleure chimiosélectivité (6%) sont obtenus. Pour ce qui est des complexes dont les ligands n'ont qu'un seul carboxyle, à savoir [Fe^{II}(L4MeC₂O₂H)](Fe^{II}Cl₄) et [Fe^{II}(L2MeC₂O₂H)](Fe^{II}Cl₄), ils ont tous deux la même activité (24%) avec, néanmoins, une production de sulfone plus importante avec le complexe [Fe^{II}(L2MeC₂O₂H)](Fe^{II}Cl₄) (23 contre 35%).

La différence de propriétés catalytiques des complexes de fer(II) entre le milieu organique et le milieu aqueux, en termes d'activité catalytique et de sélectivité, est surprenante, ne serait-ce qu'au niveau de la condition sans complexe, où il y a une bien plus forte production de sulfoxyde en milieu aqueux qu'en milieu organique. Nous observons, en milieu aqueux, un important phénomène de suroxydation qui n'a pas lieu en milieu organique. En effet, dans ce milieu et en condition sans complexe, il n'y a pas de sulfone avec l'hypochlorite de sodium (Tableau III-12), alors qu'en milieu aqueux, en utilisant le même oxydant, le rendement en sulfone est de 10% (Tableau III-13). Nous avons ici une illustration probante de l'influence de la seconde sphère de coordination, dans ce cas le solvant, sur les propriétés catalytiques des complexes. Cette notion est très importante comme nous le verrons lors de l'étude catalytique des hybrides.

B. Les complexes destinés à être insérés dans HSA

Pour l'élaboration d'oxygénases artificielles avec HSA, nous avons opté pour la stratégie du "Cheval de Troie" de manière à avoir une insertion dirigée des complexes métalliques. Pour ce faire, ceux-ci doivent comporter un motif de reconnaissance pour cette protéine (une ancre) relié au site de coordination par un bras espaceur.

Nous avons choisi le triiodobenzoate (TIB) et l'ibuprofène (Ibu) comme motifs de reconnaissance, car ceux-ci ne nécessitent qu'un minimum de modifications nécessaires à leur ajout sur les ligands. De plus, ces molécules sont reconnues par HSA avec un K_d de l'ordre du micromolaire permettant de s'assurer que les complexes seront suffisamment retenus. En outre, ces molécules ne possèdent que deux sites de fixation dans HSA, dont un de plus haute affinité que l'autre, pour tenter de ne mettre qu'un seul complexe par protéine.

Ces ancres moléculaires sont reliées à un site de coordination par un bras espaceur hydrocarboné contenant trois atomes de carbone pour apporter une certaine flexibilité. De plus, cette longueur pour le bras permet d'éloigner suffisamment le motif de reconnaissance de la partie complexante de manière à ne pas modifier la densité électronique de l'atome d'azote de l'amine pour ne pas gêner la complexation du fer.

Quant au site de coordination, il est identique à celui des complexes de fer que nous voulons insérer dans NikA, à savoir de type N_2Py_2 (Figure III-35).

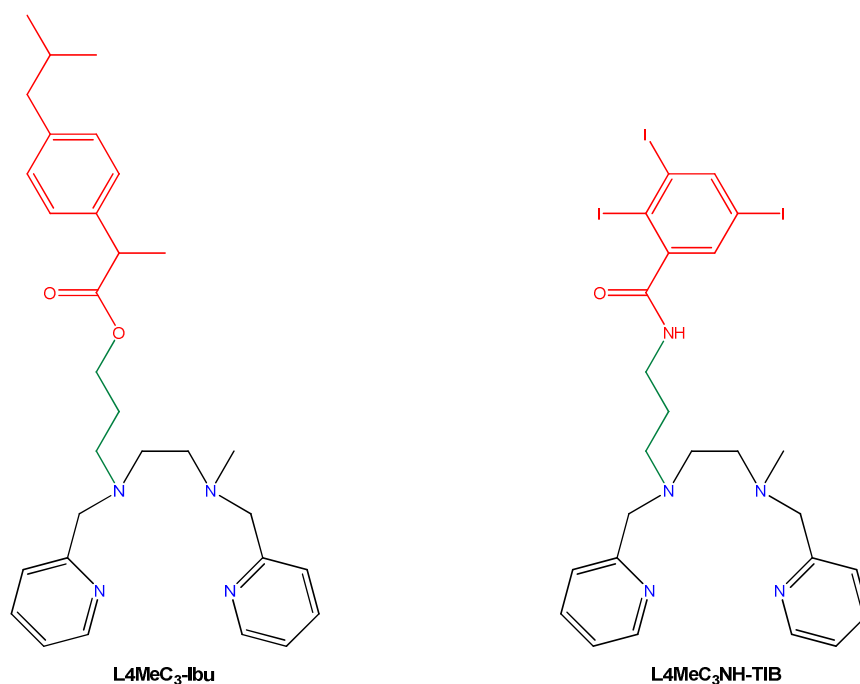


Figure III-35. Structure des ligands pour l'insertion dans HSA. Les ancres sont représentées en rouge, le bras espaceur en vert et les atomes d'azote du site de coordination en bleu.

I- Préparation et caractérisation des complexes

I-1. Synthèse des ligands

I-1.1. Le ligand L4MeC₃-Ibu

Nous n'avons pas rencontré de difficultés lors de la préparation du ligand **L4MeC₃-Ibu**. Celle-ci ne nécessite que trois étapes de synthèse et deux étapes de purification (Schéma III-9).

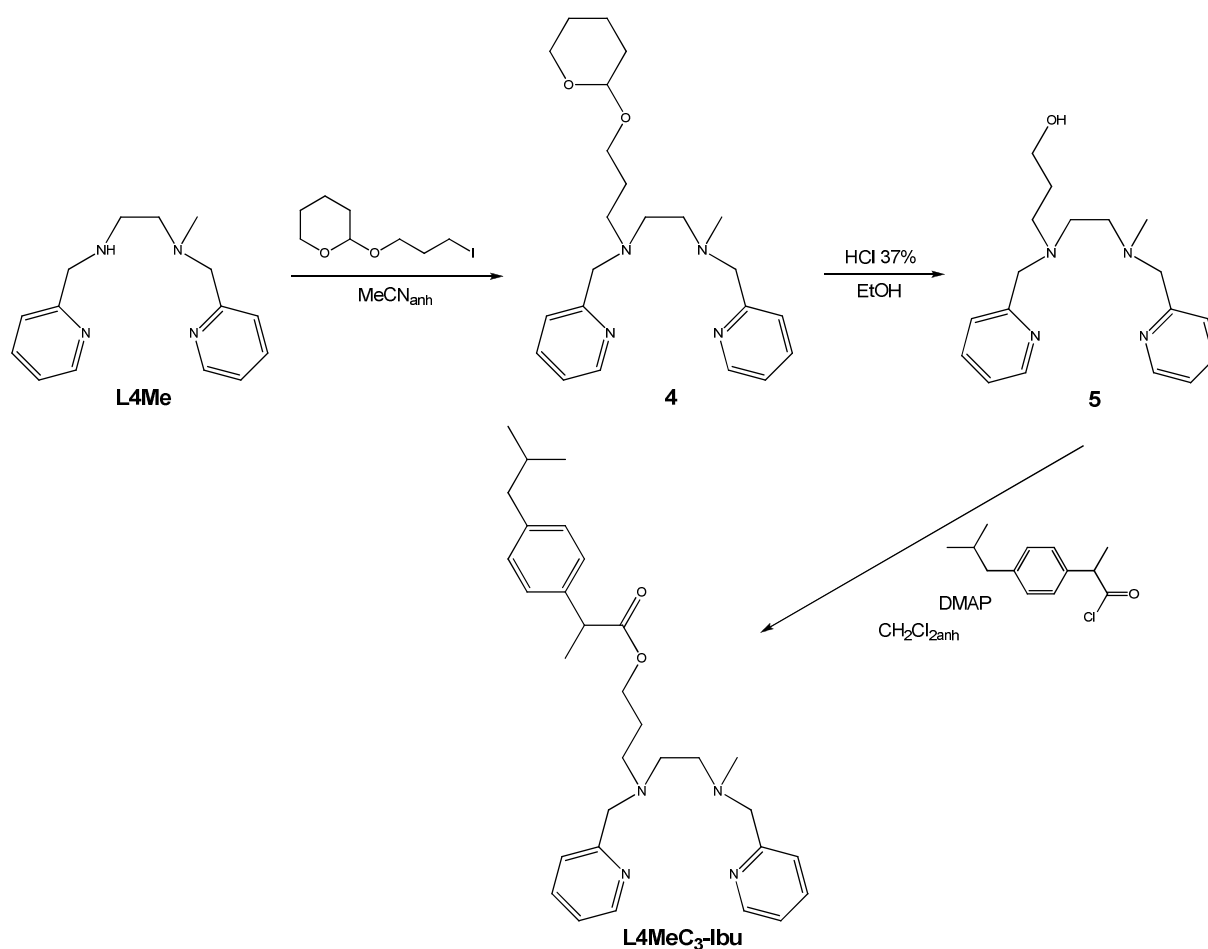


Schéma III-9. Voie de synthèse du ligand **L4MeC₃-Ibu**.

- *Composé 4*

Cette étape consiste à greffer sur le ligand **L4Me** un bras espaceur à trois atomes de carbone contenant un alcool protégé sous la forme d'un tétrahydropyrane, et ce, par substitution nucléophile de l'iodure du 3-iodopropoxytétrahydropyrane par l'amine

secondaire de **L4Me**. Le composé **4** est obtenu sous la forme d'une huile jaune avec un rendement de 76% après purification sur colonne de gel d'alumine neutre.

- *Composé 5*

Le composé **4** est traité avec de l'acide chlorhydrique afin d'enlever le groupement tétrahydropyrane pour déprotéger l'alcool terminal. Le composé **5** est obtenu sous la forme d'une huile orangée avec un rendement de 95% et utilisé tel quel pour l'étape suivante.

- *L4MeC₃-Ibu*

Cette étape correspond à l'insertion du motif de reconnaissance pour la protéine HSA. Cette insertion se fait selon une réaction d'estérification entre l'alcool secondaire du composé **5** et la fonction acide de l'ibuprofène activée sous la forme d'un chlorure d'acide. En présence de 10% de *N,N*-diméthylaminopyridine (DMAP) et de triéthylamine, la réaction entre le chlorure d'acide et l'alcool conduit au ligand **L4MeC₃-Ibu** sous la forme d'une huile orangée avec un rendement de 94% après purification sur colonne de gel d'alumine neutre.

I-1.2. Le ligand L4MeC₃NH-TIB

Pour le ligand **L4MeC₃NH-TIB**, nous avons souhaité lier l'ancre avec une fonction différente de la précédente, à savoir un amide plutôt qu'un ester pour ajouter une possibilité de liaison hydrogène entre le ligand et la protéine.

La préparation de ce ligand s'est faite en deux étapes de synthèse et a nécessité une étape de purification (Schéma III-10). Malgré la simplicité apparente de cette voie de synthèse, nous avons rencontré des difficultés au niveau de la seconde étape dues à la réactivité particulière du composé **6** et à sa faible solubilité dans les solvants.

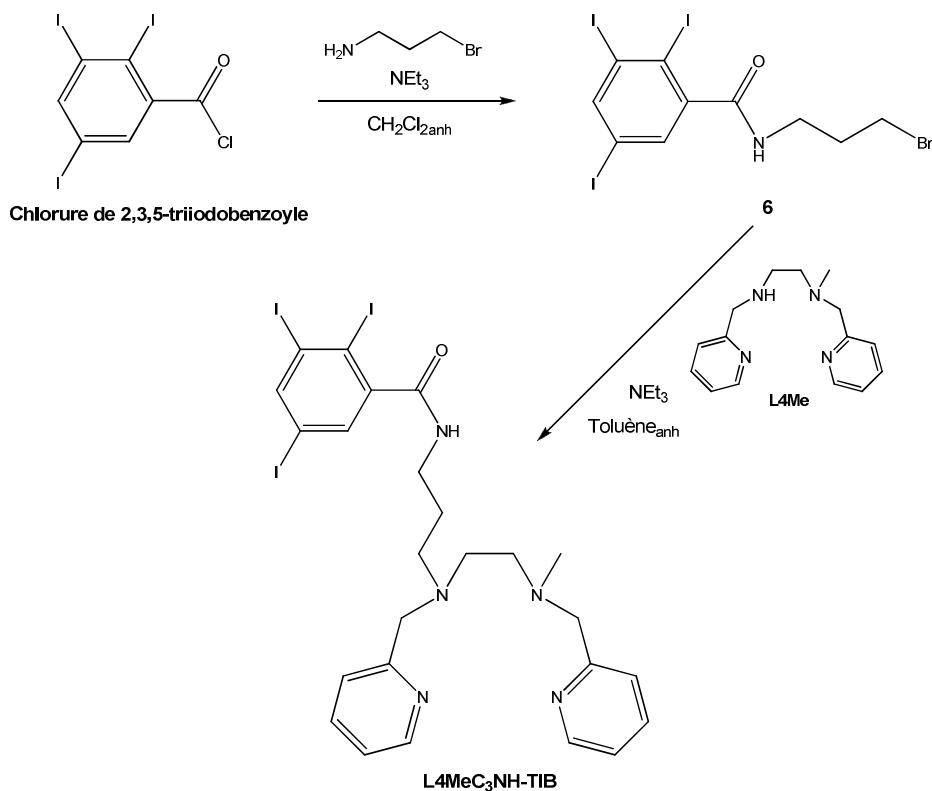


Schéma III-10. Voie de synthèse du ligand **L4MeC₃NH-TIB**

- *N*-(3-bromopropyl)-2,3,5-triiodobenzamide (**6**)

Le composé **6** résulte de la réaction d'amidation entre la 3-bromopropylamine et le chlorure de 2,3,5-triiodobenzoyl, la triéthylamine servant à piéger l'acide chlorhydrique qui se forme lors de cette réaction. Le composé **6** est obtenu sous la forme d'un solide blanc avec un rendement quantitatif (Rdt ~ 100%).

- *Ligand L4MeC₃NH-TIB*

Pour la dernière étape, différents protocoles ont été testés dans le but d'obtenir le ligand **L4MeC₃NH-TIB** avec un rendement raisonnable (> 50%). Sur le Schéma III-10 est représentée la méthode nous ayant donné le meilleur rendement. Celle-ci consiste à faire réagir le composé **6** avec le ligand **L4Me** en présence de triéthylamine (pour piéger l'acide bromhydrique qui se forme pendant la réaction) dans le toluène anhydre. Cette réaction est une substitution nucléophile du bromure du composé **6** par l'amine secondaire de **L4Me**. Le ligand **L4MeC₃NH-TIB** est obtenu sous la forme d'un solide avec 54% de rendement après purification sur colonne de gel d'alumine neutre.

L'analyse des spectres de RMN ^1H , nous a laissé supposer que ce modeste rendement était la conséquence d'une hydrolyse du composé **6**, au niveau de la liaison C-Br, aussi avons-nous effectué la réaction avec de la triéthylamine séchée par distillation sur potasse. Une analyse en RMN ^1H sur un prélèvement du milieu réactionnel après 24 heures nous a montré une proportion de 50/50 pour le produit et le composé **6** modifié. La réaction n'a cependant pratiquement pas évolué après 48 heures, dénotant soit la faible réactivité de l'amine de **L4Me**, soit la décomposition du composé **6** au cours de la réaction, voire les deux.

Dans l'optique de réduire davantage la présence d'eau dans le milieu, du carbonate de potassium a été substitué à la triéthylamine, et de l'iodure de sodium ajouté *in situ* pour augmenter la réactivité. En effet, l'iodure venant se substituer au bromure du composé **6** donne le composé **6'** possédant un meilleur groupe partant. Après une heure à reflux du toluène, un précipité s'est formé. L'analyse en RMN ^1H du filtrat a montré que celui-ci contenait un tiers de produit souhaité et deux tiers d'une autre espèce de structure différente des composés **6** et **6'**. Quant au précipité, la mauvaise résolution du spectre RMN ^1H nous a fait supposer que les ligands **L4Me** et **L4MeC₃NH-TIB** étaient sous forme saline, ce qui n'est pas étonnant vu que le carbonate de potassium se dissout très mal dans le toluène.

Pour s'assurer que le milieu fût bien anhydre, nous avons effectué la réaction avec du **L4Me** séché sur sodium et de la triéthylamine séchée par distillation sur potasse, sans utiliser de l'iodure de sodium, celui-ci rendant le composé **6** plus réactif et donc plus sensible à la décomposition. Malheureusement, la quantité de **L4MeC₃NH-TIB** après 150 minutes s'est révélée supérieure à celle récupérée après 20 heures. En conséquence, le ligand **L4MeC₃NH-TIB** se décompose avec le temps. Mais, le plus surprenant est la présence de 55% de composé **6** modifié. Or, dans ce cas, il n'est plus permis de considérer l'hydrolyse comme la cause de la dégradation du composé **6**, sachant que nous nous sommes assurés de l'absence d'eau dans le milieu. Une analyse RMN ^1H plus fine du composé **6** modifié et purifié nous a conduit à proposer la formation de l'oxazine **7** dérivée de la cyclo-*O*-alkylation nucléophile du composé **6**, comme le montre le Schéma III-11. Cette cyclisation étant favorisée par la présence d'une base forte et/ou d'un meilleur groupement partant.

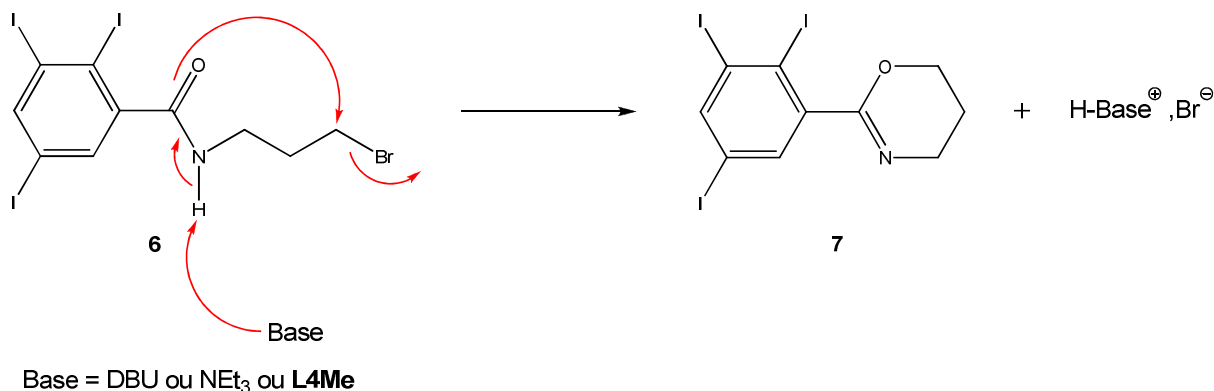


Schéma III-11. Mécanisme réactionnel de la formation de l'oxazine **7** à partir du composé **6** en présence d'une base.

Cette hypothèse est confortée par les travaux très récents de Prabhakaran et coll. qui ont démontré la formation de cette même oxazine sous forme de sel d'oxazinium à partir de *N*-(3-bromopropyl)amides selon une autocyclo-*O*-alkylation, et ce, en condition neutre dans le chloroforme.¹⁶

En conséquence, les deux raisons à l'origine de la difficulté à obtenir le ligand **L4MeC₃NH-TIB** sont :

- i) la modification du composé **6** en présence d'une base ;
- ii) la protonation des pyridines et/ou des amines du ligand **L4Me** induisant sa précipitation dans le milieu réactionnel, ce qui l'empêche de réagir.

Pour contourner ces problèmes, il faudrait faire réagir le composé **6** le plus rapidement possible en l'additionnant lentement à l'aide d'une ampoule à addition de solide sur le mélange **L4Me**/ NEt_3 dans le toluène à chaud ($\sim 100^\circ\text{C}$), le composé **6** étant insoluble dans le toluène à une température inférieure à 90°C , mais aussi dans le dichlorométhane et l'acétonitrile.

I-2. Synthèse des complexes de fer(II)

Au même titre que les complexes de fer(II) pour NikA, les complexes de fer(II) devant être incorporés dans HSA, ont été synthétisés en boîte à gants et à température ambiante.

I-2.1. Le complexe $[Fe^{II}(L4MeC_3-Ibu)](ClO_4)_2$

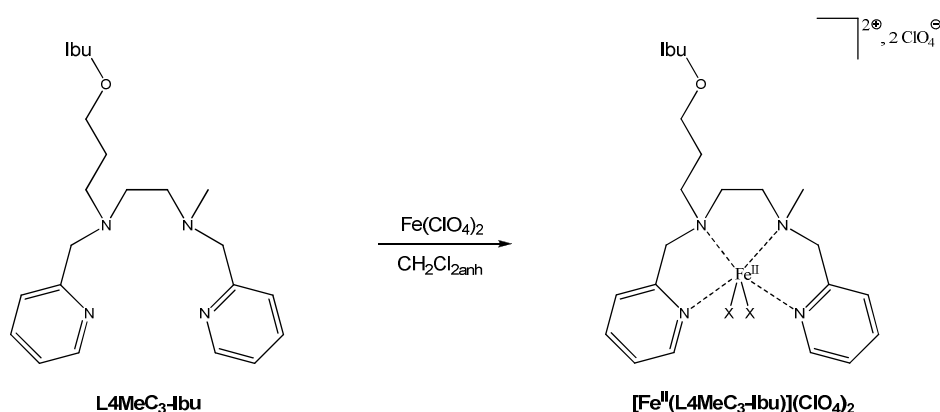


Schéma III-12. Complexation du ligand **L4MeC₃-Ibu** avec du perchlorate de fer(II).

Le complexe $[Fe^{II}(L4MeC_3-Ibu)](ClO_4)_2$ est obtenu sous la forme d'une fine poudre marron clair avec un rendement de 45%, après ajout d'éther au mélange réactionnel, filtration du milieu réactionnel, pour récupérer le précipité, puis séchage de celui-ci en boîte en gants.

I-2.2. Le complexe $[Fe^{II}(L4MeC_3-Ibu)]Cl_2$

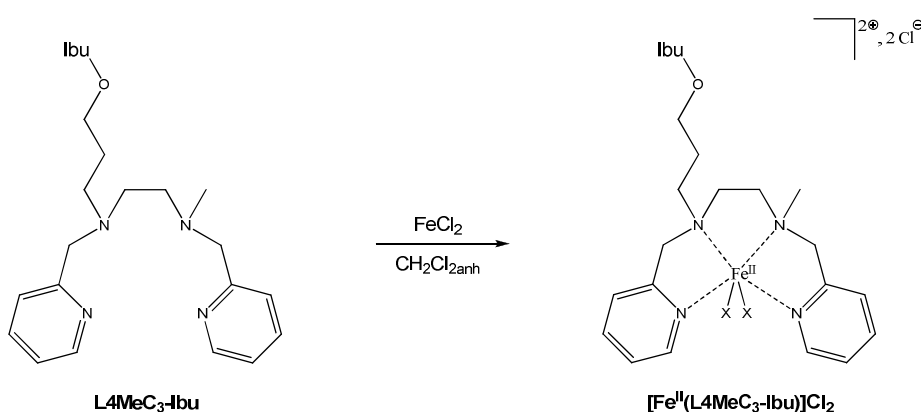


Schéma III-13. Complexation du ligand **L4MeC₃-Ibu** avec du chlorure de fer(II).

L'ajout d'éther au mélange réactionnel, suivi de la filtration de la solution et du séchage du précipité sous atmosphère de diazote, conduit au complexe $[Fe^{II}(L4MeC_3-Ibu)]Cl_2$ sous la forme d'une fine poudre jaune avec un rendement de 84%.

I-2.3. Le complexe $[Fe^{II}(L4MeC_3NH-TIB)]Cl_2$

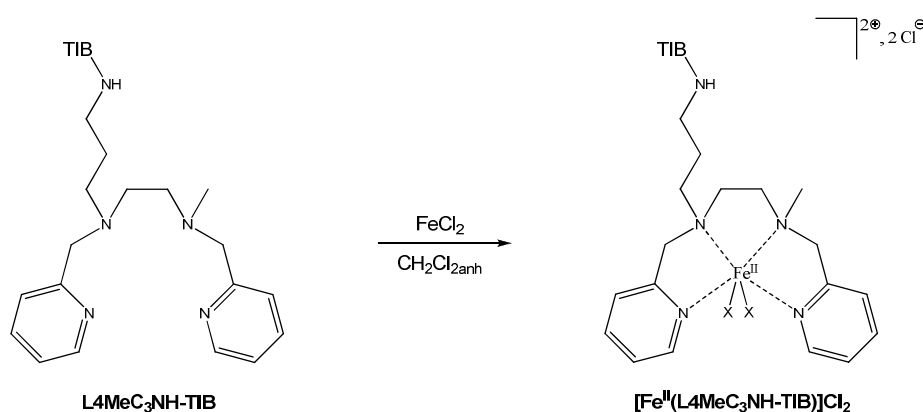


Schéma III-14. Complexation du ligand **L4MeC₃NH-TIB** avec du chlorure de fer(II).

Au bout de deux heures de réaction, un précipité se forme. Cependant, après la filtration du mélange réactionnel, le filtrat est d'une couleur jaune vif, ce qui indique la présence de complexe. Ainsi, de l'éther est ajouté au filtrat provoquant la précipitation d'un solide jaune. En conséquence, deux espèces se sont formées lors de cette réaction, comme le montrent les spectres RMN $^1H_{para}$ (Figure III-36). Le spectre RMN $^1H_{para}$ de l'espèce insoluble dans le dichlorométhane a été enregistré dans du méthanol deutéré.

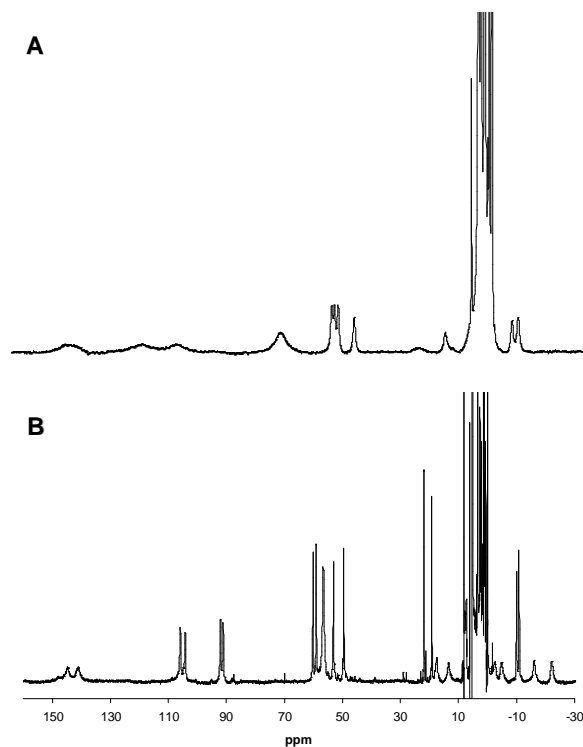


Figure III-36. Spectre RMN $^1H_{para}$ de l'espèce insoluble dans le dichlorométhane (**A**) et celui de l'espèce soluble dans ledit solvant deutéré (**B**).

Les spectres RMN $^1\text{H}_{\text{para}}$ des deux espèces sont fortement différents. La largeur de certains pics pour l'espèce insoluble dans le dichlorométhane (**A**, Figure III-36) fait supposer que celle-ci contiendrait des ions Fe^{III} . Cette supposition s'est avérée exacte par les données de la spectrométrie de masse. En effet, celle-ci nous a montré que seule l'espèce soluble dans le dichlorométhane (**B**, Figure III-36) correspondait au complexe souhaité $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_3\text{NH-TIB})]\text{Cl}_2$, et que l'espèce insoluble dans ce solvant contenait un mélange de ligand libre et de complexe de fer(III).

Ce phénomène peut s'expliquer par la présence de chlorure de fer(III) dans l'échantillon de chlorure de fer(II) ou à la présence d'oxygène moléculaire dans le dichlorométhane suite à un dégazement insuffisant de celui-ci.

I-3. Caractérisation des complexes

La difficulté à obtenir des analyses élémentaires et des structures cristallographiques pour chaque complexe ne nous a pas permis, dans ce cas, de proposer une structure précise. Il n'en reste pas moins que des suggestions ont pu être faites suite à des études spectroscopiques.

- *Etude par spectrométrie de masse ESI*

Les spectres de masse en mode positif des complexes $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_3\text{-Ibu})](\text{ClO}_4)_2$, dans l'acétone, et $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_3\text{-Ibu})]\text{Cl}_2$, dans le dichlorométhane, sont présentés sur les Figures III-37 et III-38, respectivement.

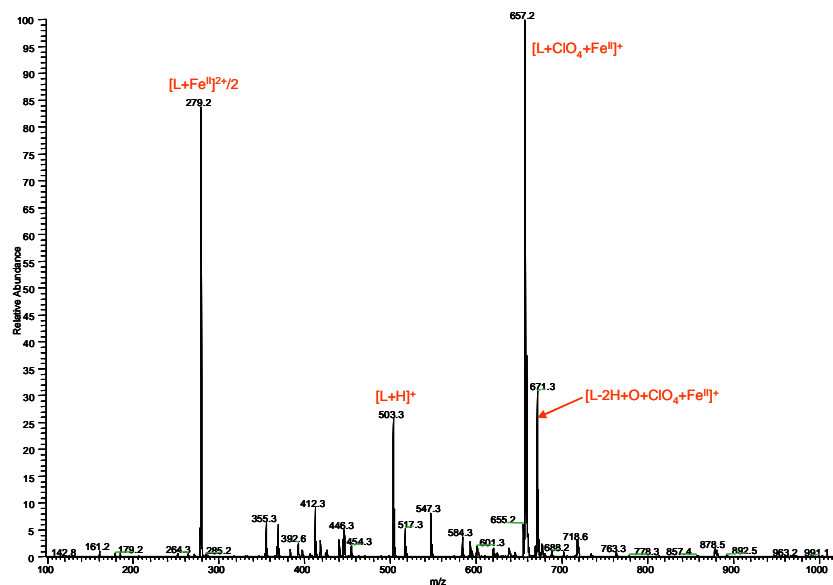


Figure III-37. Spectre de masse en mode positif du complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_3\text{-Ibu})](\text{ClO}_4)_2$ dans l'acétone.

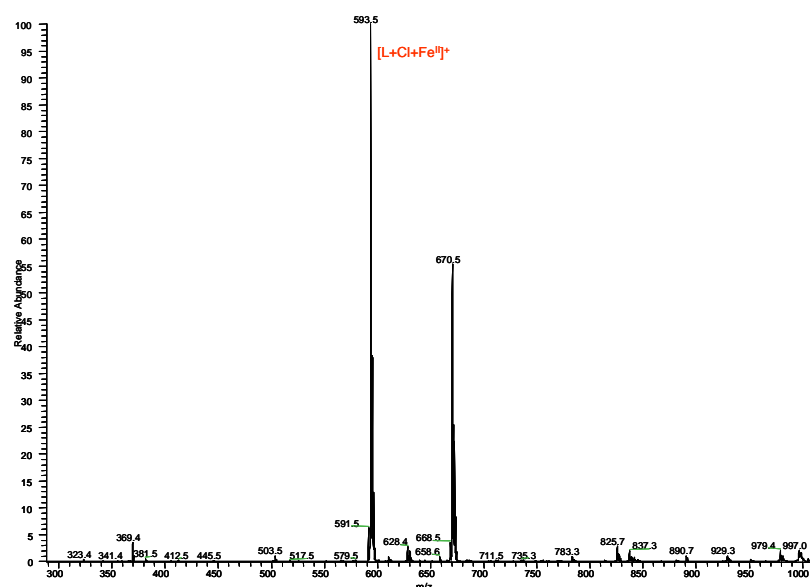


Figure III-38. Spectre de masse en mode positif du complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_3\text{-Ibu})]\text{Cl}_2$ dans le dichlorométhane.

Sur la Figure III-37, nous observons deux pics attestant de la présence du complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_3\text{-Ibu})](\text{ClO}_4)_2$, à savoir le fragment à m/z 657,2 (100%), qui correspond au cation monochargé accompagné d'un ion perchlorate, et celui à m/z 279,2 (84%), attribué au cation dichargé. Néanmoins, il y a deux autres pics, dont nous ne savons pas si ils sont d'origine artéfactuelle, ou si ils correspondent à des espèces présentes dans la solution avant

l'expérience ESI-MS. Ces deux fragments se situent à m/z 503,3 (26%) et 671,3 (32%). Le premier correspond au ligand libre et le second au complexe doublement déprotoné, en présence d'un ion perchlorate, avec l'ajout d'un carbonyle sur le ligand, ce qui impliquerait une oxydation de celui-ci. Cette espèce est probablement obtenue directement dans la source électrospray.

Dans le cas du complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_3\text{-Ibu})]\text{Cl}_2$ (Figure III-38), le pic majoritaire à m/z 593,5 (100%) est attribué au cation $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_3\text{-Ibu})\text{Cl}]^+$, tandis que le pic à m/z 670,5 (56%) n'a pu être identifié. L'absence de fragment correspondant au cation dichargé semble indiquer que l'ion chlorure est lié sur le métal.

Le spectre de masse du complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_3\text{NH-TIB})]\text{Cl}_2$, en mode positif, est représenté sur la Figure III-39.

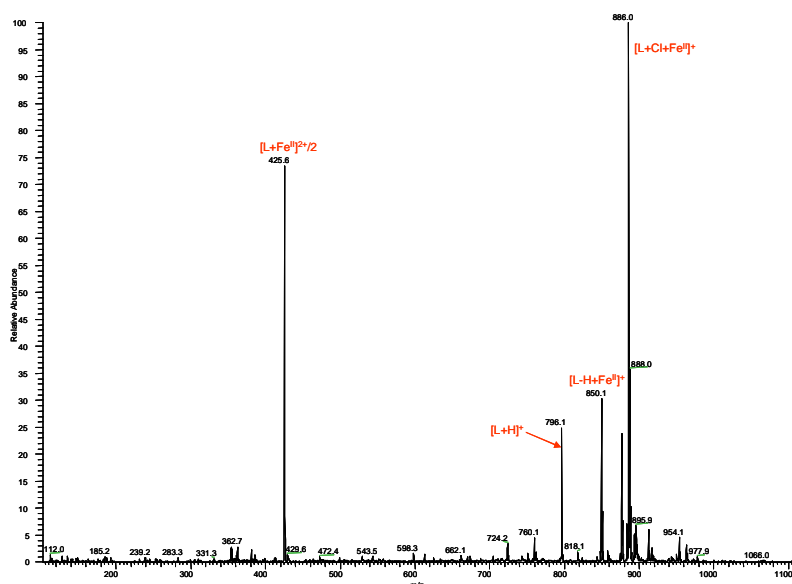


Figure III-39. Spectre de masse en mode positif du complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_3\text{NH-TIB})]\text{Cl}_2$ dans le mélange acétone/méthanol 1/1.

Les deux fragments à m/z 886 (100%) et 425,6 (73%) nous assurent de la présence du complexe, sous une forme chlorée et non chlorée, respectivement. Quant au fragment à m/z 850,1 (30%), il est attribué au complexe dont le ligand est déprotoné au niveau de l'amide. Quant au fragment situé à m/z 796,1 (25%), il correspond au ligand libre.

- *Etude par spectroscopie d'absorption UV-visible*

Sur la Figure III-40, sont présentés les spectres UV-visible des complexes $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_3\text{-Ibu})]\text{Cl}_2$ et $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_3\text{NH-TIB})]\text{Cl}_2$ effectués dans le méthanol à une concentration de 250 μM .

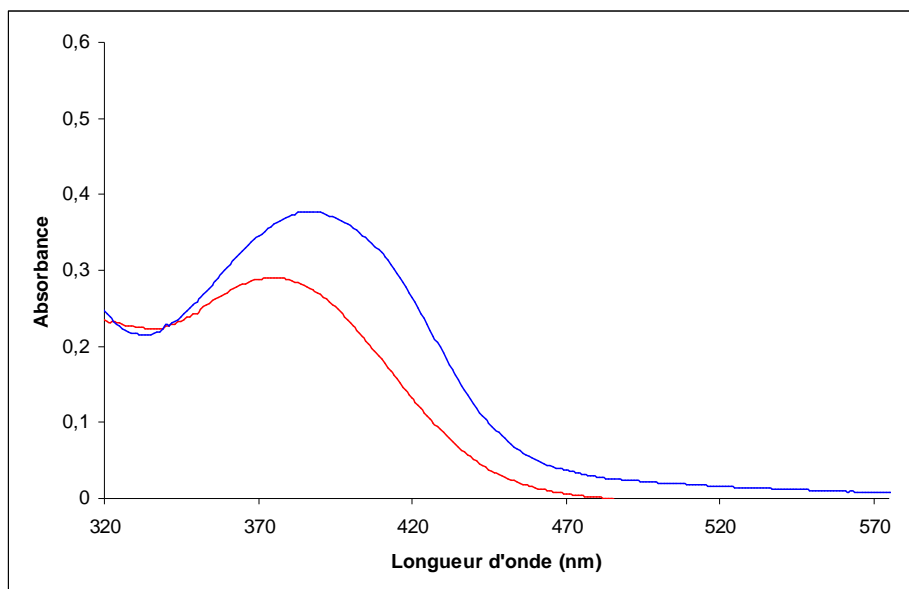


Figure III-40. Spectres UV-visible des complexes $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_3\text{-Ibu})]\text{Cl}_2$ (rouge, 250 μM) et $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_3\text{NH-TIB})]\text{Cl}_2$ (bleu, 250 μM) dans le méthanol.

Les spectres UV-visible des deux complexes sont semblables, avec une bande d'absorption à 375 nm ($\epsilon = 1,20 \text{ mM}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) pour le complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_3\text{-Ibu})]\text{Cl}_2$ et une à 385 nm ($\epsilon = 1,50 \text{ mM}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) pour le complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_3\text{NH-TIB})]\text{Cl}_2$. Ces bandes correspondent à un transfert de charge entre l'ion Fe^{II} et les noyaux pyridine.

Il est important de noter que ces spectres diffèrent de ceux des complexes devant être incorporés dans Nika, ces derniers étant dominés par les bandes d'absorption de leur contre-ion FeCl_4^{2-} . Par conséquent, les complexes $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_3\text{-Ibu})]\text{Cl}_2$ et $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_3\text{NH-TIB})]\text{Cl}_2$ ne possèdent pas cette espèce métallique en contre-ion.

- *Etude par spectroscopie RMN ^1H paramagnétique*

Les spectres RMN $^1\text{H}_{\text{para}}$ des complexes $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_3\text{-Ibu})](\text{ClO}_4)_2$ et $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_3\text{-Ibu})]\text{Cl}_2$ ont été réalisés dans un solvant non coordonnant, à savoir le dichlorométhane deutéré, pour éviter des échanges entre les molécules du solvant et les

contre-ions au niveau des sites labiles du complexe, particulièrement en présence des ions perchlorate (Figure III-41).

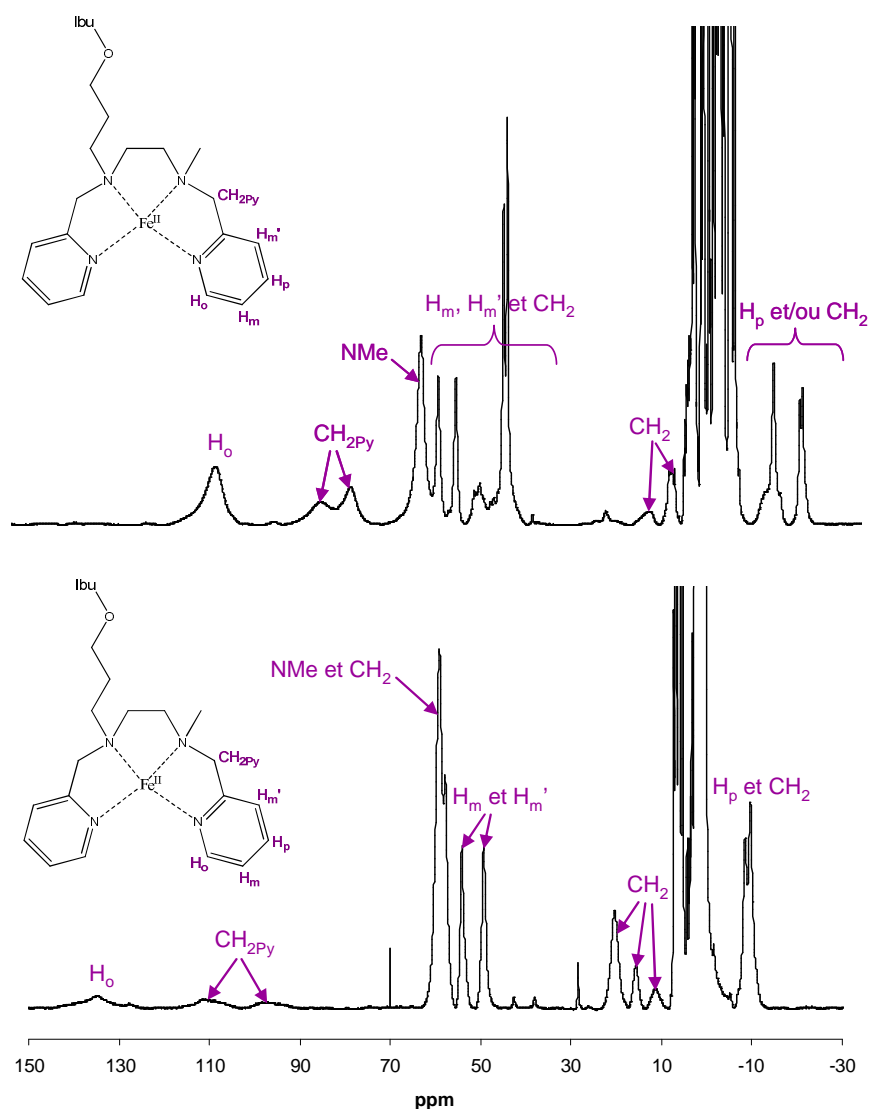


Figure III-41. Spectres RMN $^1\text{H}_{\text{para}}$ des complexes $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_3\text{-Ibu})](\text{ClO}_4)_2$ et $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_3\text{-Ibu})]\text{Cl}_2$ dans le dichlorométhane deutéré.

Les spectres RMN $^1\text{H}_{\text{para}}$ des deux complexes présentent des pics fins entre -20 et 150 ppm, en accord avec une configuration haut-spin ($S = 2$) pour l'ion Fe^{II} . Toutefois, il y a des différences, notamment la présence d'un pic situé vers -17 ppm sur le spectre du complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_3\text{-Ibu})](\text{ClO}_4)_2$ en plus du pic vers -10 ppm, présent dans les deux spectres. Mais, la plus grande différence se situe dans la région comprise entre 70 et 150 ppm ; en effet, les résonances présentes dans cette région sont plus larges dans le cas du complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_3\text{-Ibu})]\text{Cl}_2$ que dans celui du complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_3\text{-Ibu})](\text{ClO}_4)_2$.

Cette observation atteste d'une influence des anions sur les complexes, privilégiant ainsi une coordination des ions chlorure sur le centre métallique. Néanmoins, la géométrie de coordination du ligand reste inconnue.

Sur la Figure III-42, nous pouvons voir le spectre RMN $^1\text{H}_{\text{para}}$ du complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_3\text{NH-TIB})]\text{Cl}_2$.

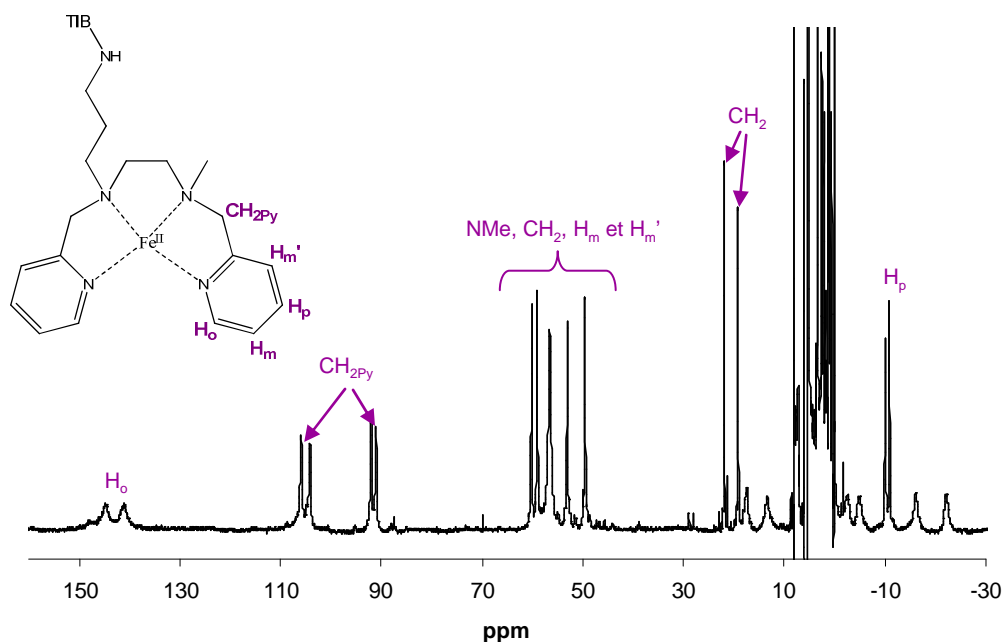


Figure III-42. Spectre RMN $^1\text{H}_{\text{para}}$ du complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_3\text{NH-TIB})]\text{Cl}_2$ dans le dichlorométhane deutéré.

Contrairement au complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_3\text{-Ibu})]\text{Cl}_2$, le complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_3\text{NH-TIB})]\text{Cl}_2$ possède un spectre RMN $^1\text{H}_{\text{para}}$ présentant des résonances très fines entre -10 et 110 ppm. Cependant, tous les pics attribués sont sous forme de doublets, à l'exemple de celui centré à 142 ppm correspondant à H_0 , ce qui suggère la présence d'un mélange de deux configurations, comme nous l'avons vu dans des cas précédents, et plus particulièrement pour le complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4)$ (Figure III-16). Néanmoins, le nombre de protons trouvé par intégration des pics ne correspond qu'à un seul complexe. Par conséquent, les doublets ont pour origine la configuration du complexe, mettant en exergue la dissymétrie du ligand.

En conséquence, ces complexes de fer(II) ont été effectivement obtenus, comme nous l'ont montré les spectres de masse. La présence d'ions chlorure dans la sphère de coordination est suggérée par la différence observée entre les allures des spectres RMN $^1\text{H}_{\text{para}}$ des

complexes $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_3\text{-Ibu})](\text{ClO}_4)_2$ et $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_3\text{-Ibu})]\text{Cl}_2$. En absence de structure cristallographique, la topologie des ligands ne peut être déterminée avec certitude. Toutefois, nous pouvons supposer que ces complexes sont dans une configuration *cis-α*, sachant que les complexes à ligand **BPMEN**, décrits à ce jour, possèdent cette configuration.

II- Activité des complexes en catalyse d'oxydation

II-1. Catalyse d'époxydation

Les complexes de fer(II), que nous voulons incorporer dans HSA, possèdent le même motif de coordination que ligand **BPMEN**. Ainsi, comme pour le cas des complexes destinés à être introduits dans NikA (Chapitre III, Partie A), nous avons étudié l'aspect fonctionnel de ces complexes à travers des expériences en catalyse d'époxydation de différents alcènes en utilisant les conditions de Que et coll.^{2d} afin d'apprécier l'impact des modifications structurales apportées par l'insertion du bras contenant le motif de reconnaissance pour HSA sur les propriétés catalytiques du complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{BPMEN})\text{Cl}_2]$. Les conditions expérimentales sont identiques à celles employées pour les complexes ayant des groupements carboxyle au niveau de leurs ligands.

Les tests catalytiques ont été effectués avec les complexes de fer(II) (Figure III-43) dans les conditions présentées précédemment.

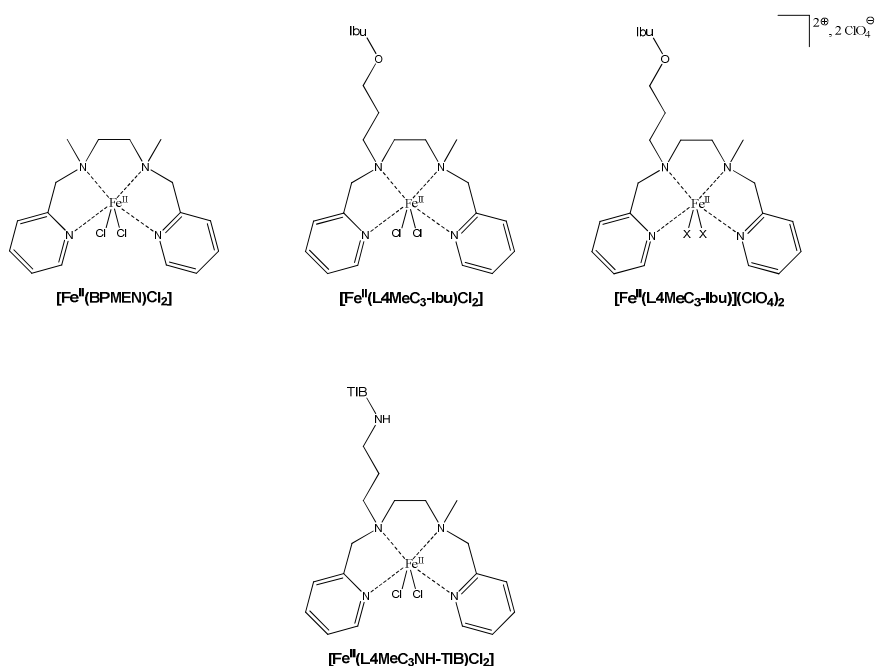


Figure III-43. Les différents complexes de fer(II) testés en catalyse d'époxydation.

II-1.1. Condition avec pousse-seringue avec une quantité variable en acide acétique

Les données provenant des études effectuées en catalyse d'époxydation avec les complexes $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{BPMEN})\text{Cl}_2]$, $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_3\text{-Ibu})\text{Cl}_2]$, $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_3\text{-Ibu})](\text{ClO}_4)_2$ et $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_3\text{NH-TIB})\text{Cl}_2]$, en conditions d'ajout du peroxyde d'hydrogène avec un pousse-seringue et en présence de différentes quantités d'acide acétique, sont présentées dans le Tableau III-14. Du triflate d'argent (2 éq.) a été ajouté au milieu catalytique avec les complexes ayant des ligands chlorure.

| Substrat | Complexe | Qté en AcOH | Rdt _{époxyde} (%) ^a | TON ^b |
|---------------------------|--|---------------|---|------------------|
| Cyclooctène | Aucun | 0 éq. | 1 | - |
| Cyclooctène | Aucun | 100 éq. | 1 | - |
| Cyclooctène | Aucun | MeCN/AcOH 1/2 | 1 | - |
| Cyclooctène | $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{BPMEN})\text{Cl}_2]$ | 0 éq. | 32 | 64 |
| Cyclooctène | $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{BPMEN})\text{Cl}_2]$ | 100 éq. | 95 | 190 |
| Cyclooctène | $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{BPMEN})\text{Cl}_2]$ | MeCN/AcOH 1/2 | 92 | 184 |
| Cyclooctène | $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_3\text{-Ibu})\text{Cl}_2]$ | 100 éq. | 64 | 128 |
| Cyclooctène | $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_3\text{-Ibu})](\text{ClO}_4)_2$ | 0 éq. | 18 | 36 |
| Cyclooctène | $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_3\text{-Ibu})](\text{ClO}_4)_2$ | 100 éq. | 55 | 110 |
| Cyclooctène | $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_3\text{-Ibu})](\text{ClO}_4)_2$ | MeCN/AcOH 1/2 | 26 | 52 |
| Cyclooctène | $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_3\text{NH-TIB})\text{Cl}_2]$ | 100 éq. | 0 | 0 |
| <i>t</i> -β-Méthylstyrène | Aucun | 100 éq. | 1 | - |
| <i>t</i> -β-Méthylstyrène | $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{BPMEN})\text{Cl}_2]$ | 100 éq. | 12 | 24 |
| <i>t</i> -β-Méthylstyrène | $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_3\text{-Ibu})\text{Cl}_2]$ | 100 éq. | 10 | 20 |
| <i>t</i> -β-Méthylstyrène | $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_3\text{-Ibu})](\text{ClO}_4)_2$ | 100 éq. | 3 | 6 |
| <i>t</i> -β-Méthylstyrène | $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_3\text{NH-TIB})\text{Cl}_2]$ | 100 éq. | 0 | 0 |
| <i>t</i> -2-Heptène | Aucun | 100 éq. | 1 | - |
| <i>t</i> -2-Heptène | $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_3\text{-Ibu})\text{Cl}_2]$ | 100 éq. | 20 | 40 |

Condition : cat/H₂O₂/substrat = 1/300/200. Temps réactionnel = 30 minutes.

^a Rendement en époxyde par rapport à la quantité de substrat. ^b Turnover number (nombre de cycle catalytique).

Tableau III-14. Résultats de la catalyse d'époxydation effectuée par les complexes devant être incorporés dans HSA en comparaison du complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{BPMEN})\text{Cl}_2]$ avec l'ajout de H₂O₂ par pousse-seringue dans l'acétonitrile.

Les données du Tableau III-14 nous montrent la même tendance de réactivité en fonction des substrats que nous avons observée avec les complexes à substituants carboxyle.

En effet, les meilleurs rendements sont obtenus avec le cyclooctène, et les moins bons avec le *trans*- β -méthylstyrène.

Les résultats découlant de la catalyse d'époxydation du cyclooctène, nous montrent que nos complexes sont moins actifs que le complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{BPMEN})\text{Cl}_2]$. Pour preuve, en absence d'acide acétique, les rendements en époxyde sont de 32 et 18% avec les complexes $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{BPMEN})\text{Cl}_2]$ et $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_3\text{-Ibu})(\text{NCMe})_2](\text{ClO}_4)_2$, respectivement, et en présence de 100 équivalents d'acide acétique, le rendement en époxyde atteint 95% avec $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{BPMEN})\text{Cl}_2]$, 64% avec $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_3\text{-Ibu})\text{Cl}_2]$ et seulement 55% avec $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_3\text{-Ibu})(\text{NCMe})_2](\text{ClO}_4)_2$.

D'autre part, ces résultats indiquent une importante différence d'activité entre les complexes ayant pour ancre l'ibuprofène ($[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_3\text{-Ibu})\text{Cl}_2]$ et $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_3\text{-Ibu})(\text{NCMe})_2](\text{ClO}_4)_2$) et celui ayant pour ancre le triiodobenzoate ($[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_3\text{-Ibu})\text{Cl}_2]$), comme l'atteste l'absence de produit d'oxydation lorsque ce dernier est utilisé. Les complexes $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_3\text{-Ibu})\text{Cl}_2]$ et $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_3\text{-Ibu})(\text{NCMe})_2](\text{ClO}_4)_2$ sont quant à eux actifs, et principalement celui qui possède les ions chlorure. Toutefois, seulement 10% de rendement sont obtenus, avec ce complexe, en présence de 100 équivalents d'acide acétique, vis-à-vis de l'époxydation du *trans*- β -méthylstyrène, ce qui souligne le caractère électrophile de l'espèce oxydante. Le rendement obtenu lors de la catalyse d'époxydation du même substrat et selon les mêmes conditions, avec le complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{BPMEN})\text{Cl}_2]$, est du même ordre de grandeur (12%). Le rendement augmente un peu lorsque le substrat est le *trans*-2-heptène (20%) du fait qu'il possède une insaturation plus riche en électrons que celle du *trans*- β -méthylstyrène, mais plus pauvre que celle du cyclooctène.

L'aspect le plus surprenant qui émane de ces résultats est la diminution de l'activité catalytique du complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_3\text{-Ibu})(\text{NCMe})_2](\text{ClO}_4)_2$ dans un mélange acétonitrile/acide acétique 1/2. En effet, en catalyse d'époxydation du cyclooctène, le rendement passe de 55%, en présence de 100 équivalents d'acide acétique, à 26% en condition acétonitrile/acide acétique 1/2. Dans le cas de la catalyse d'époxydation du cyclooctène effectuée par le complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{BPMEN})\text{Cl}_2]$, nous observons une très légère baisse du rendement. En effet, le rendement en époxyde est de 95% en présence de 100 équivalents d'acide acétique, alors qu'il est de 92% lorsque le solvant du milieu catalytique consiste en un mélange acétonitrile/acide acétique 1/2.

En conséquence, les différentes remarques suite à l'analyse des données du Tableau III-14, mettent en évidence une différence notable entre les propriétés catalytiques

des complexes que nous voulons introduire dans HSA et celles du complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{BPMEN})\text{Cl}_2]$. Cela indique que le substituant n'est pas anodin vis-à-vis de l'activité catalytique. Il se peut qu'il induise une modification de la densité électronique du ligand par un effet sur la basicité de l'amine portant le substituant et/ou que le noyau aromatique, situé au niveau des ancrs, soit potentiellement oxydable.

II-1.2. Condition sans pousse-seringue avec une quantité variable en acide acétique

Les études préliminaires de catalyse d'époxydation menées sur les complexes, en absence de pousse-seringue, avec une variation de la quantité d'acide acétique, sont présentées sur le Tableau III-15.

| Substrat | Complexe | Qté en AcOH | Rdt _{époxyde} (%) | TON |
|---------------------------------------|--|---------------|----------------------------|-----|
| Cyclooctène | Aucun | 100 éq. | 1 | - |
| Cyclooctène | Aucun | MeCN/AcOH 1/2 | 1 | - |
| Cyclooctène | $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{BPMEN})\text{Cl}_2]$ | MeCN/AcOH 1/2 | 58 | 116 |
| Cyclooctène | $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_3\text{-Ibu})\text{Cl}_2]$ | MeCN/AcOH 1/2 | 71 | 142 |
| Cyclooctène | $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_3\text{-Ibu})](\text{ClO}_4)_2$ | 100 éq. | 15 | 30 |
| Cyclooctène | $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_3\text{-Ibu})](\text{ClO}_4)_2$ | MeCN/AcOH 1/2 | 32 | 64 |
| Cyclooctène | $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_3\text{NH-TIB})\text{Cl}_2]$ | 100 éq. | 14 | 28 |
| Cyclooctène | $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_3\text{NH-TIB})\text{Cl}_2]$ | MeCN/AcOH 1/2 | 57 | 114 |
| <i>trans</i> - β -Méthylstyrène | Aucun | 100 éq. | 1 | - |
| <i>trans</i> - β -Méthylstyrène | $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_3\text{-Ibu})\text{Cl}_2]$ | MeCN/AcOH 1/2 | 0 | 0 |
| <i>trans</i> - β -Méthylstyrène | $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_3\text{-Ibu})](\text{ClO}_4)_2$ | 100 éq. | 4 | 8 |
| <i>trans</i> - β -Méthylstyrène | $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_3\text{-Ibu})](\text{ClO}_4)_2$ | MeCN/AcOH 1/2 | 1 | 2 |
| <i>trans</i> - β -Méthylstyrène | $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_3\text{NH-TIB})\text{Cl}_2]$ | MeCN/AcOH 1/2 | 5 | 10 |
| <i>trans</i> -2-Heptène | Aucun | 100 éq. | 0 | - |
| <i>trans</i> -2-Heptène | $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_3\text{-Ibu})\text{Cl}_2]$ | MeCN/AcOH 1/2 | 18 | 36 |
| <i>trans</i> -2-Heptène | $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_3\text{-Ibu})](\text{ClO}_4)_2$ | 100 éq. | 4 | 8 |

Condition : cat/H₂O₂/substrat = 1/300/200. Temps réactionnel = 30 minutes.

Tableau III-15. Résultats de la catalyse d'époxydation effectuée par les complexes devant être incorporés dans HSA en comparaison du complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{BPMEN})\text{Cl}_2]$ avec l'ajout de H₂O₂ sans pousse-seringue dans l'acétonitrile.

A l'instar des expériences de catalyse d'époxydation réalisées précédemment (Tableau III-14), c'est avec le cyclooctène que nous avons les meilleurs rendements en

époxyde, et plus particulièrement avec le complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_3\text{-Ibu})\text{Cl}_2]$ en condition acétonitrile/acide acétique 1/2 (71%), où le rendement dépasse celui obtenu avec le complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{BPMEN})\text{Cl}_2]$ (58%). Dans les mêmes conditions et avec le même substrat, le complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_3\text{-Ibu})(\text{NCMe})_2](\text{ClO}_4)_2$ apporte un rendement plus faible (32%). Néanmoins, le rendement est de seulement 15% lorsqu'il n'y a que 100 équivalents d'acide acétique dans le milieu. Ainsi, ces données mettent en évidence l'influence de la quantité d'acide acétique dans la catalyse d'époxydation.

Contrairement au cas dans lequel le peroxyde d'hydrogène est ajouté par pousse-seringue, le complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_3\text{NH-TIB})\text{Cl}_2]$ est actif, comme le montre la catalyse d'époxydation du cyclooctène, où des rendements de 14 et 57% sont obtenus en présence de 100 équivalents d'acide acétique et en condition acétonitrile/acide acétique 1/2, respectivement, ce qui souligne clairement qu'au plus la quantité d'acide acétique est grande, au plus le rendement est meilleur. Cependant, le rendement chute lorsque le substrat est le *trans*- β -méthylstyrène (5%), ce qui est d'ailleurs aussi le cas pour les complexes $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_3\text{-Ibu})\text{Cl}_2]$ et $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_3\text{-Ibu})(\text{NCMe})_2](\text{ClO}_4)_2$. Dès lors, il est probable que l'activation du peroxyde d'hydrogène soit plus difficile dans le cas du complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_3\text{NH-TIB})\text{Cl}_2]$ que dans les autres cas.

Par ailleurs, nous avons constaté que lorsque l'alcène contient un noyau aromatique, le milieu catalytique devient transitoirement bleu-vert quand le complexe est présent. En fin d'expérience, la solution devient orangée, couleur observée jusqu'à présent quel que soit le substrat. Ceci atteste de l'apparition d'une espèce transitoire, qui s'avère néfaste pour la catalyse, car dans ces conditions, les produits d'époxydation sont en quantité très faible. Pour preuve, seulement 3% d'époxyde et 1% de benzaldéhyde sont formés, lorsque le *cis*- β -méthylstyrène est utilisé comme substrat, dans un milieu riche en acide acétique (condition MeCN/AcOH 1/2).

II-1.3. Etudes préliminaires sur la nature de l'espèce transitoire apparaissant lors de la catalyse d'oxydation d'alcènes aromatiques.

L'identification de cette espèce transitoire peut nous donner une information sur la nature de l'espèce oxydante responsable de l'époxydation, c'est pourquoi nous avons entrepris de piéger l'intermédiaire, associé à cette transition, pour en identifier la nature en utilisant la spectroscopie UV-visible (Figures III-44 et III-45).

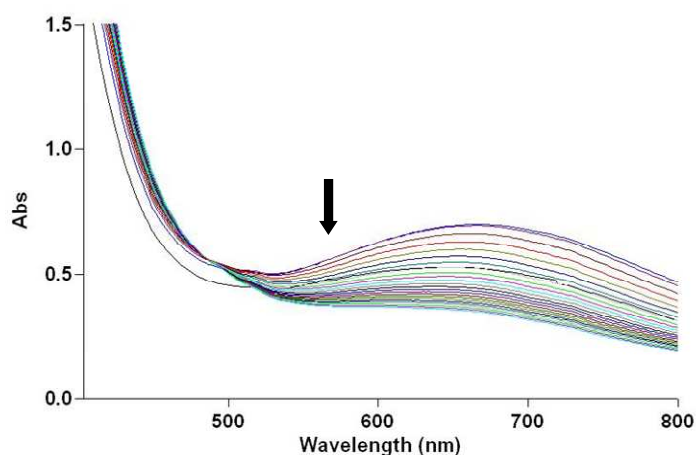


Figure III-44. Evolution du spectre de la solution $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_3\text{-Ibu})(\text{NCMe})_2](\text{ClO}_4)_2$ (1 mM) /toluène (10 mM)/ H_2O_2 (20 mM)/AcOH (100 mM) en fonction du temps (un spectre toutes les minutes), le solvant étant l'acétonitrile.

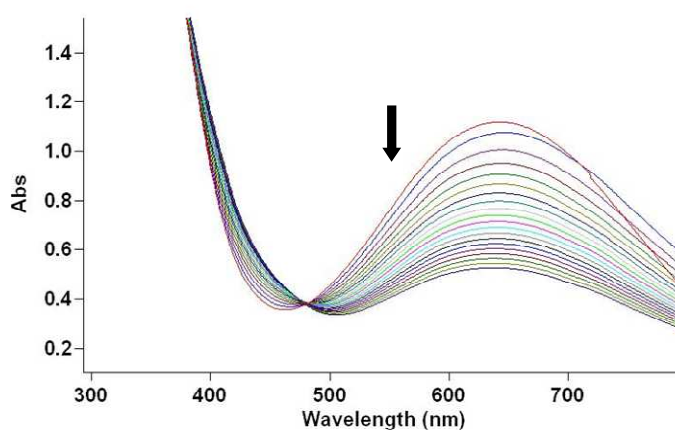


Figure III-45. Evolution du spectre de la solution $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_3\text{-Ibu})(\text{NCMe})_2](\text{ClO}_4)_2$ (1 mM)/*cis*- β -méthylstyrène (200 mM)/ H_2O_2 (300 mM) dans MeCN/AcOH 1/2 en fonction du temps (un spectre toutes les minutes).

Sur les Figures III-44 et III-45, nous observons une formation très rapide de l'espèce suivie d'une disparition beaucoup plus lente.

Dans les cas où le substrat est le toluène (Figure III-44) ou le *cis*- β -méthylstyrène (Figure III-45), nous observons un point isosbestique à 487 ou 482 nm, respectivement, ce qui illustre la transformation du chromophore en une autre espèce au cours du temps selon un processus unique.

En comparant ces deux figures, nous constatons qu'à forte concentration d'acide acétique, l'intensité de la transition est plus rapidement atteinte que lorsque sa concentration

est faible. Bien que cette espèce se soit avérée fugace, et ce, quelles que soient les conditions choisies, divers aspects de son comportement nous permettent de préciser sa nature :

- la présence du chromophore n'est effective que si le complexe est présent ;
- la présence du peroxyde d'hydrogène n'est pas suffisante ;
- l'acide acétique est absolument requis en présence de l'oxydant.

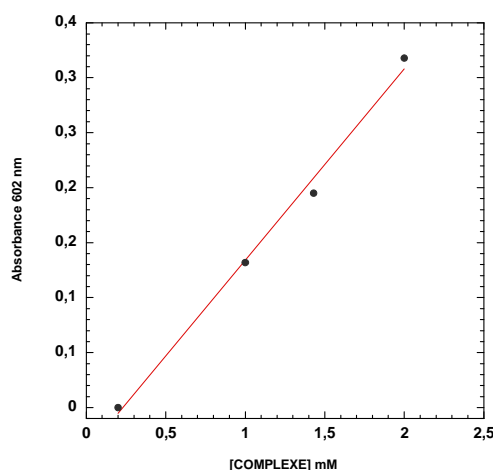


Figure III-46. Evolution de l'absorbance à 602 nm lors de l'oxydation du toluène (200 éq.) par le peroxyde d'hydrogène (300 éq.) en présence de AcOH (10 éq.) catalysée par le complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_3\text{-Ibu})(\text{NCMe})_2](\text{ClO}_4)_2$ dans l'acétonitrile.

L'effet des différents composants de la réaction se manifeste de deux façons. D'une part la concentration du complexe influe linéairement sur celle maximale en chromophore (Figure III-46). La concentration maximale en chromophore dépend aussi de celle du substrat. D'autre part, et c'est plus inattendu, la nature du chromophore, caractérisée par la longueur d'onde à laquelle son absorbance est maximale (λ_{max}), varie en fonction de la nature du substrat et de la concentration en acide acétique. En effet, le complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_3\text{-Ibu})](\text{ClO}_4)_2$ conduit à la formation d'un chromophore de λ_{max} 645 nm, lorsque le substrat est le *cis*- β -méthylstyrène, et de 625 nm en présence de toluène. De même, pour un substrat donné, l'augmentation de la concentration en acide acétique dans le milieu a un effet hypsochrome sur la transition. Ainsi, à faible concentration d'acide acétique (0 à 50 équivalents par rapport au complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_3\text{-Ibu})](\text{ClO}_4)_2$) le chromophore est caractérisé par une transition à 675 ou 689 nm en présence de toluène ou de *cis*- β -méthylstyrène, respectivement. Au-dessus de 100 équivalents, cette transition est observée à 620 ou 630 nm, respectivement.

Une tentative de suivi par spectroscopie UV-visible à basse température (-20°C) de l'oxydation du *cis*- β -méthylstyrène, a conduit à l'observation de deux transitions interdépendantes. Tout d'abord, il y a l'apparition d'une transition à 567 nm qui disparaît au profit de celle à 683 nm observée à température ambiante. L'énergie de la première transition se situe dans le domaine des transferts de charge d'un ligand peroxo vers le fer pour les complexes à ligands tétradentates azotés.¹⁷ Par conséquent, cela suggère la formation de cette espèce au cours du processus d'oxydation.

Nous avons donc choisi de piéger l'intermédiaire en condition concentrée en acide acétique, aux mêmes titres que les catalyses présentées ci-dessus, à savoir une proportion MeCN/AcOH 1/2. Dans cette condition, un spectre de résonance Raman a été enregistré sur une solution gelée au maximum de la transition en UV-visible obtenue pour le complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_3\text{-Ibu})(\text{NCMe})_2](\text{ClO}_4)_2$, en présence de toluène et de peroxyde d'hydrogène, en prenant une longueur d'onde excitatrice de 633 nm. Ce spectre présente des résonances dans la région 1000-1500 cm^{-1} qui est généralement le lieu des vibrations de noyaux aromatiques de type phénol ou phénolate. Nous observons des résonances à 1454 et 1420 cm^{-1} , qui sont le siège de vibrations C=C du cycle aromatique, une résonance à 1376 cm^{-1} , attribuée à une vibration de la liaison C-O du phénol, et une résonance plus faible à 1275 cm^{-1} qui proviendrait d'une vibration des liaisons C-H du noyau aromatique. Ces valeurs diffèrent de celles répertoriées pour le toluène.¹⁸ La présence d'un chromophore de type $\text{Fe}^{\text{III}}\text{-OPh}$ est aussi appuyée par la présence d'une vibration à 620 cm^{-1} qui correspondrait à la liaison Fe-O. Ce type de spectre a aussi été observé dans la littérature sur des complexes Fe^{III} -phénolate.¹⁹

La réaction a aussi été suivie par spectrométrie de masse ESI. Le complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_3\text{-Ibu})](\text{ClO}_4)_2$, accompagné de cinq équivalents de toluène, présente deux fragments à m/z 657 et 279 attribués à $[\text{LFe}+\text{ClO}_4]^+$ et $[\text{LFe}]^{2+}$, respectivement. La présence de 50 équivalents d'acide acétique provoque la disparition de ces fragments au profit d'un pic à m/z 617, qui correspond à $[\text{FeLOAc}]^+$, impliquant la coordination de l'acide au centre métallique (Figure III-47).

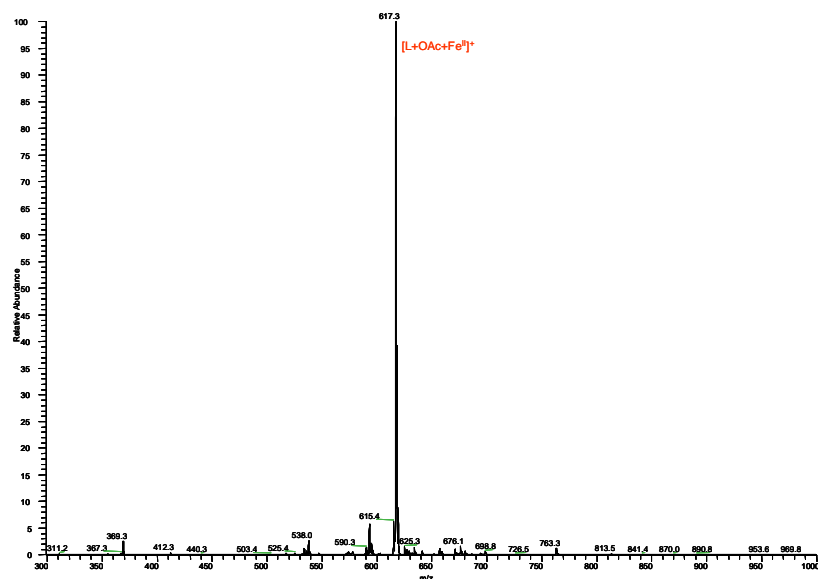


Figure III-47. Spectre de masse en mode positif réalisé sur le mélange $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_3\text{-Ibu})](\text{ClO}_4)_2$ / toluène (5 éq.)/AcOH (50 éq.) dans l'acétone.

L'ajout de peroxyde d'hydrogène n'induit que l'apparition transitoire d'un fragment à m/z 632 qui disparaît au cours du temps au profit d'un pic à m/z 634, ces fragments étant assignés à $[\text{FeL-H+O}]^+$ et $[\text{FeL+OH}]^+$. Ce résultat atteste d'une hydroxylation minoritaire du noyau aromatique du ligand $[\Delta m = +15]$ conduisant à la formation d'un complexe de type FeLO qui se décoordine au cours du temps. Par contre, aucun adduit phénolate n'a pu être détecté.

Néanmoins, la présence de phénol comme produit d'oxydation a pu être mise en évidence par le couplage entre la chromatographie en phase gazeuse et la masse lors de l'oxydation du toluène par le peroxyde d'hydrogène catalysée par le complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_3\text{-Ibu})(\text{NCMe})_2](\text{ClO}_4)_2$. Le chromatogramme présente une distribution de trois pics correspondant à un crésol. Le produit majoritaire semble être le *para*-crésol par comparaison avec un produit authentique. Nous en déduisons que les autres pics correspondent aux autres isomères. Cela indique que la réaction d'hydroxylation n'est pas spécifique, mais reste régiosélective pour une attaque en position *para* du toluène. La présence de *para*-crésol a été confirmée en RMN ^1H par l'observation de deux doublets centrés à 6,05 et 6,92 ppm (Figure III-48). Pour cette expérience, nous avons travaillé avec 1 mM de $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_3\text{-Ibu})(\text{NCMe})_2](\text{ClO}_4)_2$, 10 mM de toluène, 100 mM d'acide acétique et 20 mM de peroxyde d'hydrogène. La RMN ^1H a été faite sur ce mélange après évaporation du toluène sous pression réduite.

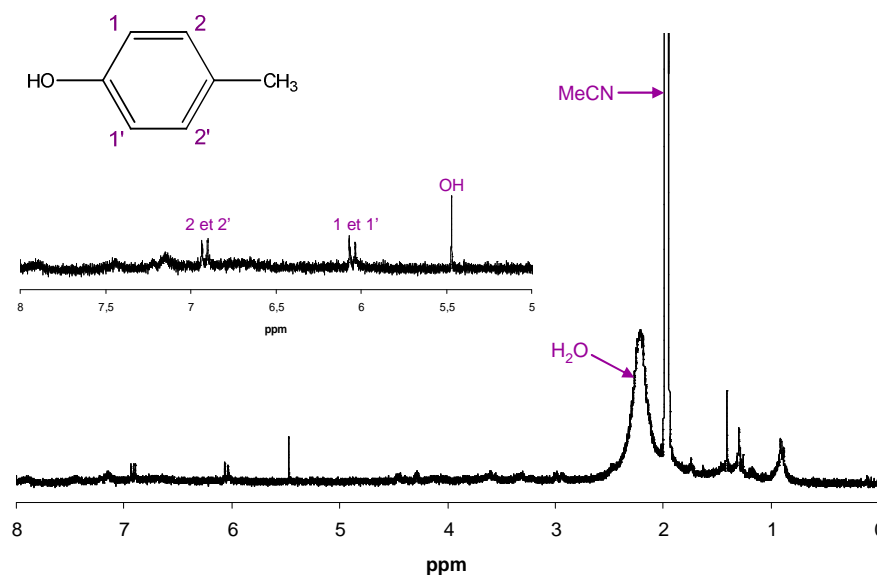


Figure III-48. Spectre RMN ^1H du mélange contenant le complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_3\text{-Ibu})(\text{NCMe})_2](\text{ClO}_4)_2$ (1 μmol), de l'AcOH (100 eq.) et du H_2O_2 (20 eq.). Le toluène (10 eq.) a été enlevé par évaporation sous pression réduite.

Il est aujourd'hui prématuré de conclure définitivement sur la nature du chromophore formé au cours de l'oxydation d'alcènes aromatiques (styrène, *cis*- β -méthylstyrène), ce qui ne nous empêche pas de proposer une structure à partir des éléments que nous avons recueillis, à savoir que le chromophore implique un transfert de charge d'un phénolate formé à partir du substrat vers l'ion ferrique. En outre, la dépendance de la longueur d'onde de cette bande de transfert de charge vis-à-vis de la concentration de l'acide acétique et de la nature du substrat indique que l'acide acétique se situe au sein du chromophore. L'absence de fragment en ESI/MS, relatifs à une espèce dinucléaire au cours de la réaction, suggère une mononucléarité de l'espèce ; pour le confirmer, des études en spectroscopie RPE sont envisagées.

Malgré que cette étude soit incomplète, elle nous a conduit à quelques nouveaux indices sur le rôle de l'acide acétique pour l'activation du peroxyde d'hydrogène par ces complexes de fer à ligands tétradentates azotés. En effet, en absence de cet acide, il n'y a pas d'hydroxylation, mais une faible quantité d'époxyde est observée. Cela suggère que le composé formé en présence d'acide acétique est plus électrophile qu'en son absence ; ce qui laisse supposer la participation d'un ion $\text{Fe}(\text{IV})$ dans le cadre de l'époxydation et un ion $\text{Fe}(\text{V})$ dans celui de l'hydroxylation aromatique. Il en découle alors un rôle de "push effect" par l'acide dans la sphère de coordination, un phénomène déjà observé au niveau des systèmes hémique et non hémique.^{20,21} Selon ce principe, l'acide acétique apporterait une assistance

nucléophile, favorisant la coupure hétérolytique de la liaison O-O de l'intermédiaire fer(III)-hydroperoxo (Schéma III-15).

R = Ibu et X = O : complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_3\text{-Ibu})(\text{ClO}_4)_2]$

R = TIB et X = NH : complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_3\text{NH-TIB})(\text{OTf})_2]$

R' = CH=CHCH_3 : *cis*- ou *trans*- β -méthylstyrène
 = CH=CH_2 : styrène
 = CH_3 : toluène

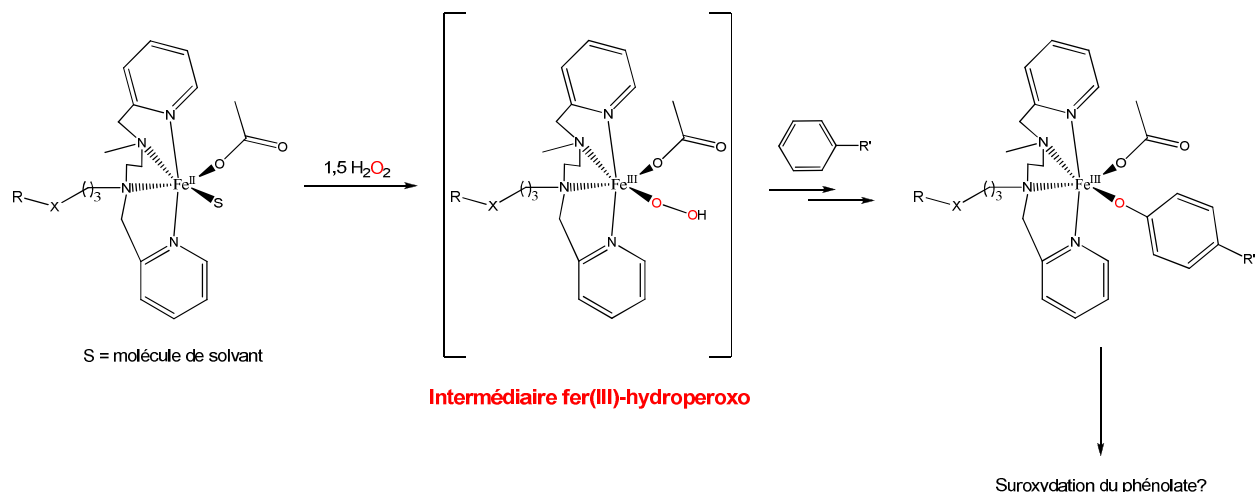


Schéma III-15. Structure du chromophore accompagnée d'une ébauche du mécanisme de sa formation.

Ces résultats sont à comparer avec les travaux récemment publiés sur l'hydroxylation aromatique d'acides aromatiques par le peroxyde d'hydrogène catalysés par des complexes de fer analogues. Dans ce cas, la régiosélectivité de l'hydroxylation est contrôlée par la coordination de l'acide acétique au sein du catalyseur. Ces complexes restent encore très instables.^{19d,22}

Dans notre cas, le substrat ne se fixe pas sur le catalyseur, ce qui rend cette étude originale. Par voie de conséquence, notre cas représente un nouvel exemple d'hydroxylation aromatique catalysée par des complexes de fer mononucléaires ou dinucléaires.²³

II-2. Catalyse de sulfoxydation

II-2.1. En milieu organique

Les conditions expérimentales sont identiques à celles utilisées pour les complexes de fer(II) destinés à être incorporés dans NikA.

Le Tableau III-16 présente les résultats de catalyse d'oxydation du thioanisole dans l'acétonitrile, au bout de 30 minutes, avec le complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_3\text{-Ibu})(\text{NCMe})_2](\text{ClO}_4)_2$.

| Entrée | Qté en AcOH | Rdt _{SO} (%) ^a | Rdt _{SO2} (%) ^b | Chimiosélectivité (%) ^c | TON _{SO} ^d |
|----------------|---------------|------------------------------------|-------------------------------------|------------------------------------|--------------------------------|
| 1 ^e | 100 équ. | 1 | 0 | 100 | - |
| 2 ^e | MeCN/AcOH 1/2 | 68 | 2 | 94 | - |
| 3 | 100 équ. | 12 | 1 | 85 | 23 |
| 4 | MeCN/AcOH 1/2 | 64 | 4 | 88 | 128 |
| 5 | 0 équ. | 9 | 1 | 80 | 18 |

Condition : cat/H₂O₂/substrat = 1/300/200 dans acétonitrile.

^a Rendement en sulfoxyde. ^b Rendement en sulfone. ^c Chimiosélectivité = $[(\text{Rdt}_{\text{SO}} - \text{Rdt}_{\text{SO2}})/(\text{Rdt}_{\text{SO}} + \text{Rdt}_{\text{SO2}})] \times 100$. ^d Nombre de cycle catalytique vis-à-vis de la production de sulfoxyde. ^e Condition sans complexe.

Tableau III-16. Résultats de la catalyse d'oxydation du thioanisole effectuée par le complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_3\text{-Ibu})(\text{NCMe})_2](\text{ClO}_4)_2$ avec l'ajout de H₂O₂ par pousse-seringue.

Lorsque la catalyse est effectuée en présence de 100 équivalents d'acide acétique, le rendement en sulfoxyde est relativement modeste (12%, entrée 3), tandis que la chimiosélectivité est bonne avec seulement 1% de rendement en sulfone (entrée 3). Par contre, en condition acétonitrile/acide acétique 1/2, le rendement en sulfoxyde (64%) est nettement supérieur avec très peu de suroxydation (entrée 4). Ceci dit, en condition dépourvue de complexe, le rendement est du même ordre de grandeur (68%) avec une très bonne chimiosélectivité (94%, entrée 2). Par conséquent, dans les deux cas, il s'agit de la même espèce responsable de la sulfoxydation du thioanisole sans que le complexe n'intervienne. Ainsi, avons-nous supposé qu'il se formait de l'acide peracétique par réaction du peroxyde d'hydrogène avec l'acide acétique. Néanmoins, cette espèce ne se forme pas lorsqu'il n'y a que 100 équivalents d'acide acétique, comme en témoigne la différence en rendements de sulfoxyde entre la condition sans complexe et celle avec complexe (entrées 1 et 3). Dans ce cas, c'est donc effectivement le complexe qui prend en charge l'oxydation du thioanisole.

Pour qu'il n'y ait aucune ambiguïté, il nous faut considérer les expériences de catalyse d'oxydation du thioanisole sans acide acétique. Dès lors, il s'avère que l'activité du complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_3\text{-Ibu})(\text{NCMe})_2](\text{ClO}_4)_2$ est faible, avec un rendement de seulement 9% en sulfoxyde et 1% en sulfone (entrée 5).

II-2.2. En milieu aqueux

En utilisant les mêmes conditions qu'avec les complexes à substituants carboxyle (Chapitre III, Partie A), le complexe a été testé en catalyse d'oxydation du thioanisole. Les données qui en résultent sont présentes sur le Tableau III-17.

| | Temps (min) | Rdt _{SO} (%) | Rdt _{SO₂} (%) | Chimiosélectivité (%) | TON _{SO} |
|--|-------------|-----------------------|-----------------------------------|-----------------------|-------------------|
| Sans complexe | 15 | 4 | 10 | -37 | - |
| | 60 | 6 | 11 | -19 | - |
| Avec [Fe ^{II} (L4MeC ₃ -Ibu)](ClO ₄) ₂ | 5 | 12 | 30 | -43 | 61 |
| | 15 | 29 | 30 | -2 | 148 |
| | 60 | 44 | 36 | 10 | 224 |

Tableau III-17. Résultats de la catalyse d'oxydation du thioanisole effectuée par le complexe [Fe^{II}(L4MeC₃-Ibu)](ClO₄)₂ dans le tampon HEPES (10 mM, pH 7) avec NaOCl comme oxydant.

En milieu aqueux et avec l'hypochlorite de sodium comme oxydant, l'efficacité catalytique du complexe [Fe^{II}(L4MeC₃-Ibu)](ClO₄)₂ est un peu plus importante qu'en milieu organique en présence de peroxyde d'hydrogène comme oxydant. En effet, dans ces conditions, un rendement en sulfoxyde de 9% est atteint en 30 minutes (Tableau III-16, entrée 5), alors qu'en milieu aqueux un rendement en sulfoxyde de 12% est obtenu au bout de 5 minutes. Nous observons une progression de la production de sulfoxyde au cours du temps pour atteindre un rendement de 44% au bout d'une heure, ce qui reste moyen.

Cependant, il faut remarquer qu'au bout de 5 minutes, il y a un important phénomène de suroxydation se traduisant par un rendement de 30% en sulfone qui n'évolue quasiment pas au cours du temps. Il n'en reste pas moins que la chimiosélectivité est moins bonne dans ces conditions que dans celles utilisées précédemment (Tableau III-16).

Les différentes études en catalyse d'époxydation effectuées avec les complexes que nous voulons introduire dans HSA ont mis en évidence que ceux-ci présentent des propriétés catalytiques qui diffèrent notablement de celles du complexe [Fe^{II}(BPMEN)Cl₂], bien que le mécanisme d'action soit probablement proche. En effet, nous constatons la même dépendance de l'activité catalytique selon la densité électronique de la double liaison à oxyder, ainsi que l'effet favorable de l'acide acétique sur l'efficacité et la sélectivité. Ces travaux ont aussi mis en exergue la différence d'activité catalytique en fonction de la nature des anions labiles (ions triflate et perchlorate).

En sulfoxydation, le complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_3\text{-Ibu})(\text{ClO}_4)_2]$ s'est révélé être peu actif en milieu organique avec le peroxyde d'hydrogène comme oxydant, et en condition acétonitrile/acide acétique 1/2, cet oxydant semble réagir avec l'acide acétique pour aboutir à de l'acide peracétique, celui-ci donnant de bien meilleurs rendement en sulfoxyde que lorsque l'oxydation est prise en charge par le complexe. En milieu aqueux, avec l'hypochlorite de sodium comme oxydant, l'activité catalytique est un peu meilleure. Ceci dit, il y a une importante production de sulfone donnant une mauvaise sélectivité.

En conséquence, il sera intéressant de voir l'effet de l'environnement protéique, une fois le complexe enfouis dans HSA, sur son activité et sa sélectivité. Nous pouvons penser que le noyau aromatique n'aura pas la même influence puisqu'il sera imbriqué dans le site de reconnaissance de la protéine.

Références :

- (1) Cherrier, M. V.; Martin, L.; Cavazza, C.; Jacquamet, L.; Lemaire, D.; Gaillard, J.; Fontecilla-Camps, J. C. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 10075-10082.
- (2) (a) Chen, K.; Que, L., Jr. *Chem. Commun.* **1999**, 1375-1376. (b) Costas, M.; Tipton, A. K.; Chen, K.; Jo, D.-H.; Que, L., Jr. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 6722-6723. (c) White, M. C.; Doyle, A. G.; Jacobsen, E. N. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 7194-7195. (d) Mas-Ballesté, R.; Que, L., Jr. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 15964-15972.
- (3) Martinho, M.; Banse, F.; Sainton, J.; Philouze, C.; Guillot, R.; Blain, G.; Dorlet, P.; Lecomte, S.; Girerd, J.-J. *Inorg. Chem.* **2007**, *46*, 1709-1717.
- (4) Baffert, C.; Collomb, M.-N.; Deronzier, A.; Kjaergaard-Knudsen, S.; Latour, J.-M.; Lund, K. H.; McKenzie, C. J.; Mortensen, M.; Nielsen, L. P.; Thorup, N. *Dalton Trans.* **2003**, 1765-1772.
- (5) Mekmouche, Y.; Ménage, S.; Toia-Duboc, C.; Fontecave, M.; Galey, J.-B.; Lebrun, C.; Pécaut, J. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 949-952.
- (6) Oldenburg, P. D.; Ke, C.-H.; Tipton, A. A.; Shteinman, A. A.; Que, L., Jr. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 7975-7978.
- (7) (a) Xu, Y.; Wang, R.-H.; Lou, B.-Y.; Han, L.; Hong, M.-C. *Acta. Cryst. C* **2004**, *60*, m296-m298. (b) Marchetti, F.; Marchetti, F.; Melai, B.; Pampaloni, G.; Zacchini, S. *Inorg. Chem.* **2007**, *46*, 3378-3384.
- (8) (a) Diebold, A.; Hagen, K. S. *Inorg. Chem.* **1998**, *37*, 215-223. (b) Hagadorn, J. R.; Que, L., Jr.; Tolman, W. B. *Inorg. Chem.* **2000**, *39*, 6086-6090. (c) Mekmouche, Y. Thèse, Université Joseph Fourier, **2001**.
- (9) (a) Ginsberg, A. P.; Robin, M. B. *Inorg. Chem.* **1963**, *2*, 817-822. (b) Shapley, P. A.; Bigham, W. S.; Hay, M. T. *Inorg. Chim. Acta.* **2003**, *345*, 255-260.
- (10) Costas, M.; Que, L., Jr. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 2179-2181.
- (11) (a) Di Vaira, M.; Mani, F.; Stoppioni, P. *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* **1997**, 1375-1379. (b) Pelagatti, P.; Bacchi, A.; Balordi, M.; Caneschi, A.; Giannetto, M.; Pelizzi, C.; Gonsalvi, L.; Peruzzini, M.; Ugozzoli, F. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2007**, 162-171.
- (12) Nakamoto, K. *Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds*. 4th ed.; Wiley: New York, **1986**; pp 231-233.
- (13) Oumous, H.; Lecomte, C.; Protas, J.; Cocolios, P.; Guillard, R. *Polyhedron* **1984**, *3*, 651-659.
- (14) Bruijninx, P. C. A.; Buurmans, I. L. C.; Gosiewska, S.; Moelands, M. A. H.; Lutz, M.; Spek, A. L.; van Koten, G.; Klein Gebbink, R. J. M. *Chem. Eur. J.* **2008**, *14*, 1228-1237.

- (15) Chen, K.; Que, L., Jr. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 2227-2229.
- (16) Reddy, D. N.; Prabhakaran, E. N. *J. Org. Chem.* **2010**, *75*.
- (17) Costas, M.; Mehn, M. P.; Jensen, M. P.; Que, L., Jr. *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 939-986.
- (18) Cleveland, F. F. *J. Chem. Phys.* **1945**, *13*, 101-106.
- (19) (a) Pyrz, J. W.; Roe, A. L.; Stern, L. J.; Que, L., Jr. *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, *107*, 614-620. (b) Carrano, C. J.; Carrano, M. W.; Sharma, K.; Backes, G.; Sanders-Loehr, J. *Inorg. Chem.* **1990**, *29*, 1865-1870. (c) Jensen, M. P.; Lange, S. J.; Mehn, M. P.; Que, E. L.; Que, L., Jr. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 2113-2128. (d) Makhlynets, O. V.; Das, P.; Taktak, S.; Flook, M.; Mas-Ballesté, R.; Rybak-Akimova, E. V.; Que, L., Jr. *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 13171-13180.
- (20) Yamaguchi, K.; Watanabe, Y.; Morishima, I. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 4058-4065.
- (21) Kaizer, J.; Costas, M.; Que, L., Jr. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 3671-3673.
- (22) Taktak, S.; Flook, M.; Foxman, B. M.; Que, L., Jr.; Rybak-Akimova, E. V. *Chem. Commun.* **2005**, 5301-5303.
- (23) (a) Ménage, S.; Galey, J.-B.; Dumats, J.; Hussler, G.; Seité, M.; Luneau, I. G.; Chottard, G.; Fontecave, M. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 13370-13382. (b) Mehn, M. P.; Fujisawa, K.; Hegg, E. L.; Que, L., Jr. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 7828-7842. (c) Furutachi, H.; Murayama, M.; Shiohara, A.; Yamazaki, S.; Fujinami, S.; Uehara, A.; Suzuki, M.; Ogo, S.; Watanabe, Y.; Maeda, Y. *Chem. Commun.* **2003**, 1900-1901. (d) Avenier, F.; Dubois, L.; Latour, J. M. *New J. Chem.* **2004**, *28*, 782-784. (e) Nielsen, A.; Larsen, F. B.; Bond, A. D.; McKenzie, C. J. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 1602-1606.

Chapitre IV. Elaboration, caractérisation et propriétés catalytiques des hybrides

A. Les hybrides préparés avec NikA

Jusqu'à présent, dans le cas des ligands **L2MeC₂O₂H** et **L2diC₂O₂H**, seuls ceux ayant la configuration *S,S* ont été utilisés. Néanmoins, l'équipe CRBio travaille aussi sur ces mêmes ligands avec la configuration *R,R*. Une des structures cristallographiques présentant un bon affinement, que nous avons obtenues, correspond à l'hybride NikA/Fe(L2diC₂O₂H), où le ligand **L2diC₂O₂H** est de configuration *R,R*. C'est pourquoi, dans cette partie, le détail stéréochimique des ligands possédant le motif cyclohexanediamine sera mentionné pour qu'il n'y ait aucune ambiguïté.

I- Préparation et caractérisation

Tous les travaux de préparation et de purification des hybrides ont été effectués par Elodie Girgenti, post-doctorante dans notre équipe, et Marina Iannello du LCCP.

Pour l'élaboration des hybrides, nous avons utilisé des complexes de fer(II) possédant les anions chlorure ou perchlorate. Cette variation a été dictée par les propriétés de solubilité et les capacités de diffusion de ces systèmes dans les solutions de cristallisation protéiques. Cependant, une fois en milieu aqueux non dégazé, l'ion Fe^{II} s'oxyde lentement en ion Fe^{III}. Cela implique une possible oligomérisation des complexes, excluant ainsi leur insertion. L'ion chlorure pouvait alors remédier à cette difficulté en restant ligand du fer. Ainsi, tous les complexes mentionnés dans ce chapitre possèdent un ion ferrique.

En outre, les hybrides ayant été préparés à pH > 7, les groupements carboxyle des ligands sont déprotonés (pKa acide carboxylique ~ 3). Par conséquent, dans ce chapitre, nous parlerons de groupements carboxylate.

I-1. Préparation et purification des hybrides

Les cinq hybrides NikA/Fe(L4MeC₂O₂H), NikA/Fe((S,S)-L2MeC₂O₂H), NikA/Fe(L4diC₂O₂H) et NikA/Fe((S,S et R,R)-L2diC₂O₂H) ont été préparés à partir des complexes $\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_2\text{O}_2\text{H})(\text{FeCl}_4)$, $\text{Fe}^{\text{II}}((\text{S,S})\text{-L2MeC}_2\text{O}_2\text{H})(\text{FeCl}_4)$, $\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4diC}_2\text{O}_2\text{H})(\text{ClO}_4)_2$ et $\text{Fe}^{\text{II}}((\text{S,S et R,R})\text{-L2diC}_2\text{O}_2\text{H})(1/2\text{FeCl}_4)$, respectivement.

La protéine NikA, en solution dans du tampon Tris (40 mM, pH 7,4), a été incubée toute la nuit, à 25°C, avec le complexe inorganique, ce dernier étant dissous dans du diméthylsulfoxyde (DMSO). Lors de l'incubation, la proportion protéine/complexe est de 1/5 afin de s'assurer de l'insertion du complexe au sein de la protéine.

Dans le but d'éliminer l'excès de molécules de complexe, la solution contenant l'hybride a été purifiée par chromatographie d'exclusion de taille, appelée aussi filtration sur gel. La petite taille du complexe le fait entrer en contact avec les aspérités présentes à la surface des billes, ce qui retarde son élution par rapport à celle de l'hybride qui est élué en premier. L'éluant utilisé a été du tampon Tris (40 mM, pH 7,4). Ensuite, la solution en sortie de colonne, contenant l'hybride purifié, est concentrée par ultrafiltration. Une analyse de la fraction non retenue (fraction ayant traversé la membrane du Centricon) est ensuite réalisée par spectroscopie d'absorption UV-visible afin de vérifier que toutes les molécules de complexe libres ont été éliminées. Les étapes de purification sur colonne et de concentration peuvent être répétées plusieurs fois. La fraction retenue est alors analysée par spectroscopie UV-visible pour doser son contenu en hybride.

I-2. Caractérisation des hybrides

I-2.1. Dosage en fer et en protéine

La méthode employée pour effectuer le dosage en fer est dérivée de celle de Fish.¹ Une gamme d'étalonnage est tout d'abord réalisée afin de déterminer la quantité de fer présente dans un échantillon protéique.

La détermination de la concentration en protéine s'effectue par un dosage au Rose Bengal (4,5,6,7-tétrachloro-2',4',5',7'-tétraiodofluorescéine) en prenant l'albumine sérique bovine (BSA) comme standard. Cette méthode de dosage est utilisée préférentiellement dans le cas des métalloprotéines, car elle est moins sensible à la présence d'ions métalliques que celle de Bradford.²

La proportion en protéine et en fer obtenue pour chaque hybride est mentionnée sur le Tableau IV-1.

| Hybride | Rapport NikA/Fer |
|--|------------------|
| NikA/Fe(L4MeC ₂ O ₂ H) | 1/1,3 |
| NikA/Fe(L4diC ₂ O ₂ H) | 1/1,1 |
| NikA/Fe(L2MeC ₂ O ₂ H) | 1/1,15 |
| NikA/Fe(L2diC ₂ O ₂ H) | 1/0,6 |

Tableau IV-1. Résultats du rapport protéine/fer pour chaque hybride.

Plusieurs étapes de purification ont été nécessaires pour parvenir à une proportion NikA/Fer d'environ 1/1, lors de la préparation des hybrides à partir des complexes de fer (II) possédant le contre-ion $\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4^{2-}$ – qui devient $\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cl}_4^-$ dans les conditions de préparation des hybrides –, ce qui s'est accompagné d'une perte en protéine et en fer. Nous pouvons supposer que la perte en protéine a eu lieu pendant l'étape de filtration sur gel et lors de l'ultrafiltration par l'adsorption des protéines sur la membrane du Centricon.

I-2.2. Etude par spectroscopie d'absorption UV-visible

Des études sur les propriétés électroniques des hybrides ont été réalisées en utilisant la spectroscopie d'absorption UV-visible. L'objectif est de connaître l'influence du complexe inorganique sur le spectre UV-visible de la partie protéique de l'hybride et ainsi, par la même occasion, de confirmer l'incorporation dudit complexe au sein de la protéine.

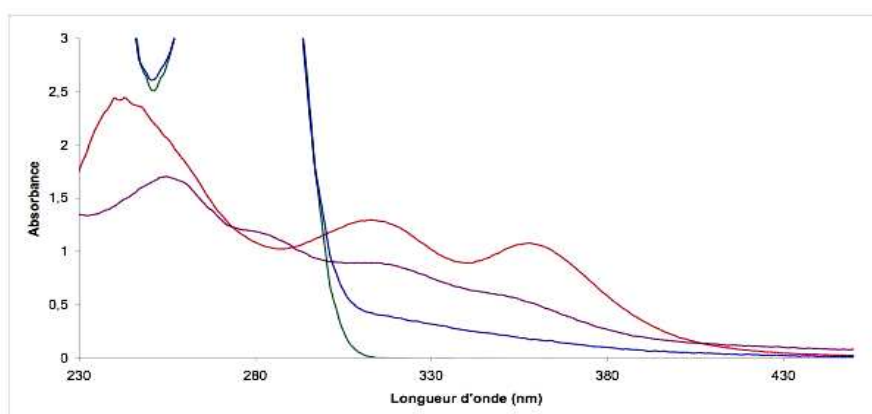


Figure IV-1. Spectres UV-visible du complexe $\text{Fe}^{\text{III}}(\text{L4MeC}_2\text{O}_2\text{H})$ (250 μM) dans l'acétonitrile (rouge) comparé à ceux du même complexe (10 mM, mauve), de la protéine NikA (89 μM , vert) et de l'hybride NikA/Fe(L4MeC₂O₂H) (89 μM , bleu) dans le tampon Tris (10 mM, pH 7,6).

Sur la Figure IV-1, nous pouvons observer les spectres UV-visible du complexe $\text{Fe}(\text{L4MeC}_2\text{O}_2\text{H})$, de la protéine NikA et de l'hybride NikA/ $\text{Fe}(\text{L4MeC}_2\text{O}_2\text{H})$ dans le tampon Tris (10 mM, pH 7,6).

Nous constatons que le spectre du complexe $\text{Fe}^{\text{III}}(\text{L4MeC}_2\text{O}_2\text{H})$ dans le tampon Tris (10 mM, pH 7,6) est différent de celui du même complexe dans l'acétonitrile. En effet, les deux bandes bien définies à 313 et 358 nm, présentes sur le spectre UV-visible du complexe de fer(III) dans l'acétonitrile, avec des coefficients d'extinction molaire de l'ordre de $12 \text{ mM}^{-1}.\text{cm}^{-1}$, ont laissé place, dans le tampon Tris, à un épaulement situé vers 350 nm et à une bande mal définie centrée à 310 nm, les coefficients d'extinction molaire ne dépassant pas $0,09 \text{ mM}^{-1}.\text{cm}^{-1}$. De plus, nous observons la présence d'un épaulement vers 275 nm ($\epsilon \sim 0,12 \text{ mM}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) qui est absent sur le spectre réalisé dans l'acétonitrile. Nous retrouvons par contre la bande d'absorption attribuée aux transitions électroniques $\pi \rightarrow \pi^*$ des noyaux pyridine, avec toutefois un décalage de 243 à 255 nm et un coefficient d'extinction molaire beaucoup plus faible que celui trouvé pour le complexe dans l'acétonitrile ($\epsilon \sim 0,17$ contre $19,7 \text{ mM}^{-1}.\text{cm}^{-1}$). Les modifications dans la région comprise entre 270 et 400 nm sont probablement dues à la disparition de l'espèce FeCl_4^- via sa solvation par les molécules d'eau et/ou sa précipitation dans le tampon parfois visible sous la forme d'un solide orangé. En conséquence, la bande d'absorption vers 350 nm peut être attribuée au transfert de charge entre l'ion ferrique et les pyridines au niveau du complexe $\text{Fe}^{\text{III}}(\text{L4MeC}_2\text{O}_2\text{H})$. Cependant, cette explication ne rend pas compte de la chute du coefficient d'extinction molaire de la bande vers 250 nm, car celle-ci ne correspond pas à l'espèce FeCl_4^- mais aux pyridines du ligand. La faiblesse des absorbances indique aussi l'absence de dimère à pont oxo.³

Quant à la protéine NikA, celle-ci possède au niveau de son spectre UV-visible une bande d'absorption très intense à 280 nm – non montrée ici –, reliée à l'absorption des résidus aromatiques que sont le tryptophane, ainsi que la tyrosine et la phénylalanine dans une moindre mesure.

Pour ce qui est de l'hybride NikA/ $\text{Fe}(\text{L4MeC}_2\text{O}_2\text{H})$, son spectre UV-visible présente, en plus de la bande à 280 nm, un large épaulement centré à 340 nm ($\epsilon \sim 2,92 \text{ mM}^{-1}.\text{cm}^{-1}$), ce qui conforte ainsi l'entrée du complexe dans la protéine. Cette absorption pourrait avoir plusieurs origines, d'une part, des transferts de charges au sein du complexe et, d'autre part, une variation des propriétés électroniques des résidus tryptophane 398 et tyrosine 402, ainsi que des arginines (Chapitre II, Figure II-3), liée à la présence du complexe à leur proximité.

Il est intéressant de savoir si nous observons la même modification spectrale dans le cas d'un hybride pour lequel le squelette et la configuration du complexe inséré sont

différents, par exemple l'hybride NikA/Fe(L2MeC₂O₂H), dont le ligand possède un motif cyclohexanediamine et une topologie *cis*- β , contrairement au ligand **L4MeC₂O₂H** qui a une topologie *cis*- α (Figure IV-2). Ces aspects structuraux, que nous avons mentionnés au Chapitre III, concernent les complexes de fer(II) en solution organique.

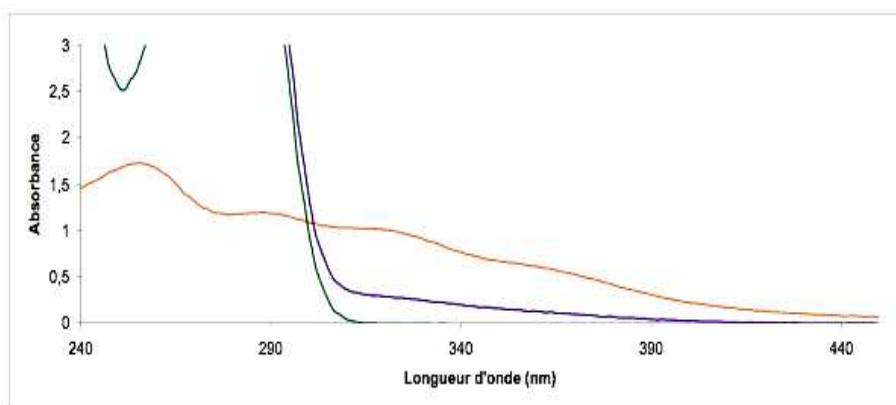


Figure IV-2. Spectre UV-visible de l'hybride NikA/Fe(L2MeC₂O₂H) (89 μ M, mauve) comparé à ceux du complexe Fe(L2MeC₂O₂H) (10 mM, orange) et de la protéine NikA (89 μ M, vert) dans le tampon Tris (10 mM, pH 7,6).

Le complexe Fe(L2MeC₂O₂H) possède un spectre UV-visible semblable à celui du complexe Fe(L4MeC₂O₂H) dans le tampon Tris (10 mM, pH 7,6), avec un épaulement vers 360 nm ($\epsilon \sim 0,06 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$), des bandes mal définies centrées à 310 ($\epsilon \sim 0,10 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$) et 286 nm ($\epsilon \sim 0,12 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$), ainsi que la bande d'absorption correspondant aux transitions $\pi \rightarrow \pi^*$ des pyridines à 253 nm ($\epsilon \sim 0,17 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$).

En ce qui concerne l'hybride NikA/Fe(L2MeC₂O₂H), nous observons la même modification du spectre de la protéine NikA, suite à son incubation avec le complexe, se traduisant par l'apparition d'une bande d'absorption très large centrée à 340 nm avec un coefficient d'extinction molaire d'environ $2,30 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$.

Les autres complexes ont les mêmes spectres UV-visible dans ce tampon et nous observons le même changement au niveau du spectre de NikA, et ce, quel que soit le complexe utilisé, à savoir l'apparition d'une large bande centrée à 340 nm avec un coefficient d'extinction molaire d'environ $2,30 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$. Nous avons ainsi la signature spectroscopique en UV-visible de l'incorporation du complexe métallique au sein de NikA.

I-2.3. Détermination des constantes d'affinité des complexes par spectroscopie de fluorescence

Les expériences en spectroscopie de fluorescence ont été effectuées par E. Girgenti au laboratoire.

La spectroscopie de fluorescence consiste à irradier une molécule à une longueur d'onde donnée, appelée longueur d'onde excitatrice, induisant le passage des électrons de l'état fondamental à un état excité. Lorsque les électrons reviennent à leur niveau fondamental, il y a émission de photons possédant une longueur d'onde souvent supérieure, la longueur d'onde d'émission. Cette différence d'énergie entre la longueur d'onde d'excitation et celle d'émission provient d'une perte de l'énergie initiale sous forme de chaleur.

Dans le cas des protéines, les acides aminés qui fluorescent sont les résidus aromatiques, à savoir la phénylalanine, la tyrosine et le tryptophane. Ce dernier est le fluorophore endogène principal des protéines, car il possède le meilleur rendement quantique parmi les trois acides aminés aromatiques et il est très sensible aux modifications de son environnement (température, pH et polarité).⁴ Etant donné que dans le site de fixation de Fe(EDTA) de la protéine NikA, il se trouve un résidu tryptophane (Trp398), le complexe inorganique, une fois incorporé dans cette poche, doit se trouver au voisinage de ce résidu (Chapitre II, Figure II-3) et induire une différence de fluorescence, comme le montrent les expériences de quenching. En conséquence, des expériences de spectroscopie de fluorescence ont été menées sur NikA en présence d'une quantité croissante de complexe. La protéine est soumise à une longueur d'onde excitatrice (λ_{exc}) de 280 nm et fluoresce à une longueur d'onde d'émission ($\lambda_{\text{ém}}$) de 340 nm (Figure IV-3).

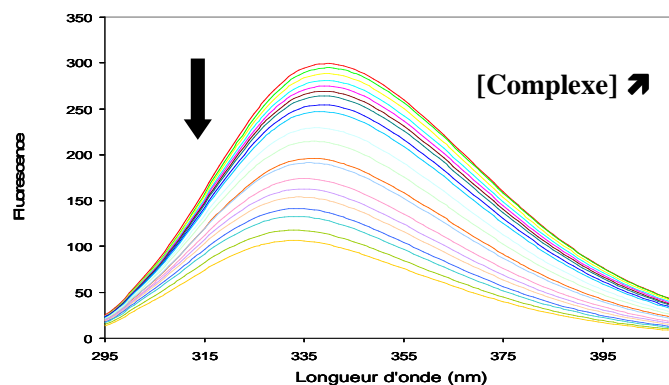


Figure IV-3. Spectres d'émission de NikA (5 μM) en présence d'une quantité croissante de complexe Fe((S,S)-L2diC₂O₂H) réalisés à 25°C et à pH 7,4.

Pour une concentration de 5 μM de la protéine NikA, nous mesurons l'intensité de fluorescence à 340 nm, longueur d'onde où l'intensité de fluorescence est à son maximum. Dès lors, nous constatons que cette intensité diminue en fonction de l'augmentation de la concentration en complexe, ce qui est caractéristique d'une extinction de la fluorescence du résidu tryptophane par le complexe métallique, attestant ainsi son interaction, ou du moins, sa proximité avec cet acide aminé.⁵ En outre, l'intensité maximale de fluorescence se décale légèrement vers les plus petites longueurs d'onde, phénomène relatif à un environnement de plus en plus hydrophobe.⁶ Par conséquent, la spectroscopie de fluorescence nous assure de la présence du complexe inorganique dans la poche de NikA.

En reportant les intensités de fluorescence sur un graphe en fonction du volume ajouté de complexe, puis en reliant les points avec une courbe de tendance ayant une équation quadratique et en supposant que la proportion NikA/Fer soit de 1/1, nous avons accès aux constantes de dissociation K_d (Figure IV-4).⁷

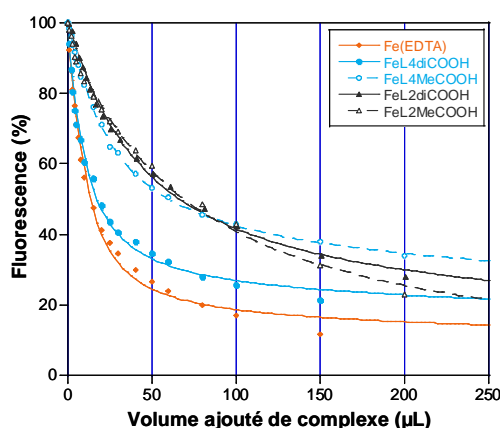
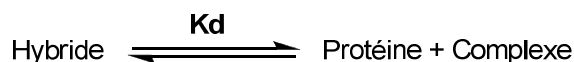


Figure IV-4. Courbes résultant de l'ajustement quadratique des points représentatifs de l'intensité de fluorescence en fonction du volume ajouté de complexe.

Le K_d désigne la constante d'équilibre de la dissociation entre le complexe et la protéine, comme illustré ci-dessous :



$K_d = [\text{Protéine}] \times [\text{Complexe}] / [\text{Hybride}] = 1/K_a$, où K_a est la constante d'association entre la protéine et le complexe.

L'équation ci-dessus nous montre que plus la concentration en hybride est grande, plus la valeur du K_d est petite, donc plus le complexe inorganique a d'affinité pour la protéine.

La valeur du K_d , déduite des courbes tracées sur la Figure IV-4, pour chaque complexe que nous avons synthétisé ainsi que pour le complexe Fe(EDTA), est présentée sur le Tableau IV-2.

| Complexe | Valeur du K_d (μM) |
|---|-----------------------------------|
| Fe(EDTA) | $3,1 \pm 0,4$ |
| Fe(L4diC ₂ O ₂ H) | $3,3 \pm 0,6$ |
| Fe(L4MeC ₂ O ₂ H) | $6,8 \pm 0,2$ |
| Fe(L2diC ₂ O ₂ H) | $17,0 \pm 1,3$ |
| Fe(L2MeC ₂ O ₂ H) | $27,7 \pm 3,9$ |

Tableau IV-2. Valeur des constantes de dissociation K_d pour les complexes carboxylés comparée à celle du complexe Fe(EDTA).

D'après les données du Tableau IV-2, c'est le complexe Fe(EDTA) qui possède la meilleure affinité pour NikA. Néanmoins, la valeur du K_d pour le complexe Fe(L4diC₂O₂H) est très proche de celle du complexe Fe(EDTA), ce qui indique que ce complexe est celui qui a le plus d'affinité pour NikA parmi les quatre complexes que nous avons synthétisés. En effet, du point de vue structural, c'est celui dont le ligand partage le plus de points communs avec l'EDTA, c'est-à-dire un motif éthylènediamine et deux groupements carboxylate.

Par contre, si le ligand ne possède qu'un seul groupement carboxylate, tel le ligand **L4MeC₂O₂H**, alors le complexe correspondant a deux fois moins d'affinité pour la protéine ($6,8$ contre $3,3 \mu\text{M}$). Il ressort des différentes valeurs des K_d que les complexes ayant deux groupements carboxylate ont plus d'affinité pour la protéine que leur contrepartie n'en ayant qu'un seul. Nous retrouvons la même tendance pour les complexes possédant un motif cyclohexanediamine, à savoir 17 et $27,7 \mu\text{M}$ pour les complexes Fe((*S,S*)-L2diC₂O₂H) et Fe((*S,S*)-L2MeC₂O₂H), respectivement.

Un autre aspect à prendre en compte est celui de la gêne stérique apportée par le motif cyclohexanediamine. En comparant les valeurs des K_d pour les complexes Fe(L4MeC₂O₂H) et Fe((*S,S*)-L2MeC₂O₂H), qui n'ont qu'un seul groupement carboxylate, nous voyons que c'est le complexe possédant le motif cyclohexanediamine qui a le moins d'affinité pour la protéine ($6,8$ et $27,7 \mu\text{M}$, respectivement).

Nous déduisons des différentes valeurs de K_d que plus le complexe est éloigné de Fe(EDTA) du point de vue structural, moins bonne est son affinité pour NikA. Ainsi, le ligand **(*S,S*)-L2MeC₂O₂H**, qui n'est doté que d'un seul groupement carboxylate et qui possède un

motif cyclohexanediamine, donne le complexe ayant la plus grande valeur pour le K_d . En effet, le nombre de groupements carboxylate étant moindre, il y a moins d'interactions possibles avec les résidus de la protéine, sans compter la gêne stérique apportée par le cyclohexane. Cette valeur limite sera prise en compte pour l'établissement des conditions expérimentales lors des tests en catalyse.

I-2.4. Etude structurale par diffraction des rayons X

Toutes les études cristallographiques ont été effectuées par Mickaël Cherrier et Christine Cavazza du LCCP/IBS.

Les cristaux de NikA ont poussé dans un milieu constitué de sulfate d'ammonium (~ 1,8 M), d'acétate de sodium (0,1 M), à un pH de 4,7. La cristallisation de la protéine s'est faite à une concentration d'environ 10 mg.mL⁻¹.

La cristallisation des hybrides a été réalisée par trempage, c'est-à-dire par diffusion du complexe inorganique dans des cristaux de NikA contenant du Fe(EDTA). Les cristaux qui ont été obtenus appartiennent au groupe d'espace orthorhombique $P2_12_12_1$. Il s'est avéré que les affinités voisines des complexes et de Fe(EDTA) permettent le remplacement de celui-ci par ces différents complexes.

D'avantage d'informations concernant la cristallographie de ces hybrides sont présentées en Annexe 2.

I-2.4.1. Les hybrides avec les complexes possédant le motif éthylènediamine

Les données cristallographiques concernant la protéine NikA sont connues. Cette protéine cristallise dans le groupe d'espace $P2_12_12_1$ sous la forme d'un dimère et présente ainsi deux sous-unités à l'intersection desquelles se trouve le site de fixation de Fe(EDTA). Par conséquent, nous observons dans la maille deux sites de fixation (sites A et B).⁸

Pour ce qui est de l'hybride NikA/Fe(L4diC₂O₂H), il semble qu'un dinucléaire de fer à pont oxo se trouve au sein même de la poche de NikA, et ce, quelle que soit la source de fer utilisée lors de la synthèse du complexe (Fe(ClO₄)₂ ou FeCl₂). Cependant, les dosages en fer et en protéine ont montré l'absence de dinucléaire de fer dans la solution. Par conséquent, cette espèce se formerait dans la solution de cristallisation. Aussi, avons-nous décidé de ne pas exploiter ces résultats.

Dans le cas de l'hybride NikA/Fe(L4MeC₂O₂H), la Figure IV-5 montre que le ligand **L4MeC₂O₂H** peut adopter deux topologies différentes au sein de la poche de NikA, à savoir les topologies *trans* (**A**) et *cis*-β (**B**), et ce, dans un même site. En conséquence, ce mélange a rendu l'affinement difficile, d'où l'absence de carte "omit" et de la valeur des distances. La structure cristallographique de cet hybride a été obtenue avec une résolution de 1,7 Å.

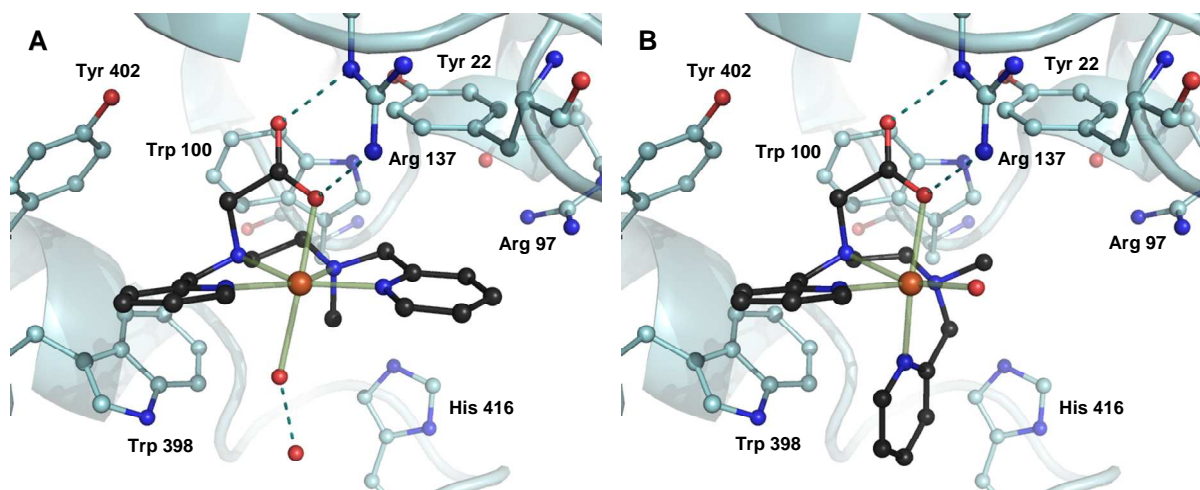


Figure IV-5. Structures cristallographiques montrant les deux différentes configurations du complexe Fe(L4MeC₂O₂H) au sein de la poche de NikA. Les atomes de carbone du ligand sont représentés en noir, ceux d'azote en bleu, ceux d'oxygène en rouge et l'ion ferrique en orange. Les atomes de carbone des résidus de la protéine sont colorés en bleu ciel.

En ce qui concerne la configuration *trans* (**A**), les deux noyaux pyridine sont *cis* l'un par rapport à l'autre et les atomes d'azote des amines et des pyridines se situent dans le plan équatorial ; quant à la position apicale, elle est occupée par le carboxylate et une molécule d'eau. De même, il est à noter que les groupements carboxylate et méthyle sont *anti* l'un par rapport à l'autre. L'ion ferrique se trouve dans un environnement pseudo-octaédrique au niveau duquel il est coordiné par le ligand pentadentate **L4MeC₂O₂H** et la molécule d'eau, ce sixième site de coordination constituant ainsi une position labile.

Pour ce qui est de la topologie *cis*-β (**B**), les quatre atomes d'azote ne sont pas coplanaires avec une des deux pyridines qui est *trans* par rapport au carboxylate. A l'instar du ligand ayant une géométrie de coordination *trans*, les deux groupements pyridine sont dans une disposition relative en *cis*, mais dans des plans perpendiculaires. Par ailleurs, les groupements carboxylate et méthyle sont *syn* l'un par rapport à l'autre, contrairement au cas où le complexe est dans une configuration *trans*. Le centre ferrique se trouve de nouveau dans

un environnement octaédrique distordu avec cinq des sites de coordination occupés par le ligand **L4MeC₂O₂H** et le sixième par une molécule d'eau.

Dans les deux cas, le groupement carboxylate interagit avec l'arginine 137 par des liaisons hydrogène, au même titre que le complexe Fe(EDTA) (Chapitre II, Figure II-3).⁸ De plus, la présence d'une molécule d'eau entre la tyrosine 402 et le carboxylate du ligand (non représentée sur la Figure IV-5), est à l'origine d'un relais pour l'établissement de liaisons hydrogène entre ce résidu et ledit carboxylate. En outre, nous observons une autre interaction s'établissant entre le complexe et les acides aminés de la protéine qui n'est pas présente avec le complexe Fe(EDTA) ; il s'agit d'une interaction hydrophobe de type π -stacking entre l'une des pyridines du ligand et le résidu tryptophane 398. Cependant, cette interaction est probablement faible, étant donné que la pyridine et le résidu aromatique ne sont pas dans un même plan (angle moyen de 46°) et sont éloignés d'une distance d'environ 5 Å.

Nous remarquons en observant ces structures, que quelle que soit la topologie adoptée par le ligand, le positionnement du fer par rapport aux acides aminés de la poche de NikA est le même. Cette disposition résulte de l'interaction directe du carboxylate et de l'une des pyridines du ligand avec l'arginine 137 et le tryptophane 398, ainsi que de l'interaction indirecte avec la tyrosine 402 par l'intermédiaire d'une molécule d'eau.

L'observation de ces données structurales nous impose une remarque importante. En effet, celles-ci montrent pour la première fois des topologies *cis*- β et *trans* pour un ligand dérivé du **BPMEN**. En effet, celui-ci a toujours été décrit comme ayant une topologie *cis*- α .^{9,10} Qui plus est, concernant les ligands de type N₂Py₂, la configuration *trans* a été découverte pour deux ligands seulement (**L⁸Py₂** et **BPMPN**), les autres adoptant les topologies *cis*- α ou *cis*- β .¹⁰

Nous pourrions supposer que ces deux topologies soient imposées par l'environnement protéique, et que le ligand en solution présenterait la topologie *cis*- α , ce qui serait un autre aspect innovant, sachant qu'il a été montré qu'il n'y a pas de conversion entre les différentes topologies en solution.⁹ Néanmoins, l'analyse en RMN ¹H_{para} du complexe Fe^{II}(L4MeC₂O₂H)(FeCl₄), en solution dans l'acétone (Chapitre III, Figure III-15), évoque un mélange de deux configurations. Dès lors, il est probable que ces deux géométries de coordination soient déjà présentes en solution aqueuse, d'où le mélange observé au sein de NikA. Il n'en demeure pas moins que nous avons découvert un nouveau ligand N₂Py₂ possédant une topologie *cis*- β et/ou *trans*.

I-2.4.2. Les hybrides avec les complexes possédant le motif cyclohexanediamine

Des difficultés ont été rencontrées pour déplacer le Fe(EDTA) avec les complexes Fe((S,S)-L2MeC₂O₂H) et Fe((S,S et R,R)-L2diC₂O₂H) dans la cavité de NikA, du fait d'une part d'un problème de solubilité, et d'autre part, de la valeur de leurs K_d qui est plus grande que celle des complexes à motif éthylènediamine.

Néanmoins, les structures cristallographiques des hybrides NikA/Fe((S,S)-L2MeC₂O₂H) et NikA/Fe((R,R)-L2diC₂O₂H) ont été obtenues avec une relativement bonne résolution (2 Å) avec deux molécules par unité asymétrique.

Dans le but d'établir une comparaison complète et précise entre les liaisons des complexes, toutes les distances sont répertoriées dans le Tableau IV-3.

| | | Fe((S,S)-L2MeC ₂ O ₂ H) | | Fe((R,R)-L2diC ₂ O ₂ H) | |
|--------------|---------|---|--------------|---|--------------|
| | | A | B | A | B |
| | | <i>trans</i> | <i>cis-β</i> | <i>trans</i> | <i>cis-β</i> |
| Amines | Fe - N1 | 2,06 Å | 2,05 Å | 2,06 Å | 2,17 Å |
| | Fe - N2 | 2,28 Å | 2,19 Å | 2,14 Å | 2,13 Å |
| Pyridines | Fe - N3 | 2,49 Å | 2,68 Å | 2,20 Å | 2,23 Å |
| | Fe - N4 | 2,38 Å | 2,27 Å | 2,06 Å | 2,18 Å |
| Carboxylates | O5 | 2,25 Å | 2,18 Å | 2,12 Å | 2,07 Å |
| | O6 | - | - | 2,10 Å | 2,29 Å |

Tableau IV-3. Valeurs des distances au niveau des complexes Fe((S,S)-L2MeC₂O₂H) et Fe((R,R)-L2diC₂O₂H) au sein de la poche de NikA dans les sites A et B.

✓ L'hybride NikA/Fe((S,S)-L2MeC₂O₂H)

La structure cristallographique de l'hybride NikA/Fe((S,S)-L2MeC₂O₂H) a été obtenue avec une résolution de 2 Å (Figure IV-6).

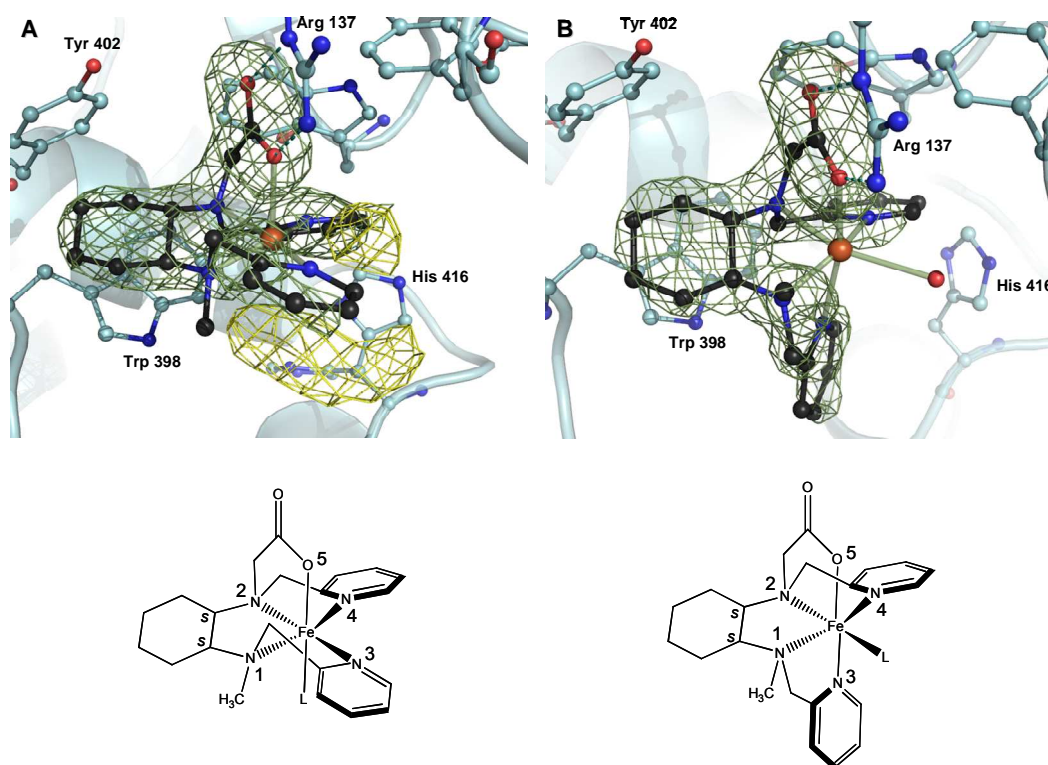


Figure IV-6. Structure cristallographique du complexe $\text{Fe}((S,S)\text{-L2MeC}_2\text{O}_2\text{H})$ dans la poche de NikA au niveau des sites A (Image **A**) et B (Image **B**) avec les cartes “omit”. Les atomes de carbone du ligand sont colorés en noir et ceux des acides aminés en bleu ciel. Les atomes d’azote sont représentés en bleu, ceux d’oxygène en rouge et l’ion ferrique en orange.

Les structures présentées sur la Figure IV-6 nous montrent qu’au même titre que les hybrides $\text{NikA}/\text{Fe}(\text{L4MeC}_2\text{O}_2\text{H})$ (Figure IV-5) et $\text{NikA}/\text{Fe}(\text{EDTA})$ (Chapitre II, Figure II-3),⁸ le groupement carboxylate du ligand $(S,S)\text{-L2MeC}_2\text{O}_2\text{H}$ interagit directement avec l’arginine 137 et indirectement avec la tyrosine 402 via une molécule d’eau. En revanche, il n’y a pas de π -stacking entre l’une des pyridines du ligand et le tryptophane 398, mais la présence du cyclohexane au-dessus de ce résidu. Cet aspect est probablement dû à la gêne stérique provenant du motif cyclohexanediamine qui induit un changement d’orientation du complexe $\text{Fe}((S,S)\text{-L2MeC}_2\text{O}_2\text{H})$ par rapport à ceux possédant le motif éthylènediamine.

Au niveau du complexe situé dans le site A, l’ion ferrique se trouve dans un environnement octaédrique distordu. Il est coordiné par les deux atomes d’azote des amines N1 et N2 selon des distances de 2,06 et 2,28 Å, respectivement, les atomes d’azote des pyridines N3 et N4 (2,49 Å et 2,38 Å), ainsi que par l’atome d’oxygène du carboxylate O5 (2,25 Å). La valeur de ces longueurs de liaison est caractéristique d’un complexe de fer(III)

haut-spin. La coordination est complétée par la densité électronique inexploitée qui est décrite plus bas.

Par ailleurs, nous constatons qu'au niveau du site A, le ligand **(S,S)-L2MeC₂O₂H** est dans une topologie *trans*. En effet, les quatre atomes d'azote sont coplanaires et les pyridines sont en *cis* de part et d'autre du fer. Quant au groupement carboxylate, il se trouve en position apicale selon un plan perpendiculaire au plan occupé par les quatre atomes d'azote. En outre, les groupements méthyle et carboxylate sont en *anti* l'un par rapport à l'autre.

Nous observons la présence de deux densités électroniques au niveau du site A (en jaune sur la Figure IV-6) sans être parvenus à trouver à quelles molécules elles correspondent. Ce qui est sûr, c'est qu'elles ne sont pas reliées à des espèces contenant un ion métallique. Des essais de cristallisation en présence d'ions azoture ont été effectués, mais n'ont pas permis d'enlever ces impuretés.

Le complexe situé dans le site B possède un ion ferrique coordonné par le ligand **(S,S)-L2MeC₂O₂H** et une molécule d'eau selon une géométrie pseudo-octaédrique. La distance entre le centre métallique et l'amine N1 est de 2,05 Å et celle séparant l'ion ferrique de l'amine N2 est de 2,19 Å. Pour la liaison Fe^{III}-N3, nous trouvons une distance de 2,68 Å, tandis que pour la liaison Fe^{III}-N4, la distance est de 2,27 Å. Quant à la longueur de la liaison Fe^{III}-O5, celle-ci est de 2,18 Å. Ces distances sont proches de celles trouvées pour le complexe situé dans le site A, à l'exception de celles avec les pyridines, et pour cause, la distance entre l'ion Fe^{III} et l'azote N3, dans le site B, est très grande pour une liaison. Ainsi, cette pyridine peut être facilement déplacée par une autre molécule à l'exemple des oxydants H₂O₂ ou NaOCl, d'où un possible site vacant supplémentaire.

A l'instar de l'hybride NikA/Fe(L4MeC₂O₂H), le ligand du complexe Fe((S,S)-L2MeC₂O₂H) dans le site B présente une topologie *cis*-β avec les deux noyaux pyridine en *cis* l'un par rapport à l'autre et les quatre atomes d'azote non coplanaires, le carboxylate étant en *trans* par rapport à l'une des pyridines et en *cis* par rapport au site labile. D'autre part, les groupements méthyle et carboxylate sont dans une disposition *syn* l'un par rapport à l'autre. Cette topologie observée au sein de la protéine conforte la configuration du complexe Fe^{II}((S,S)-L2MeC₂O₂H)(FeCl₄) déduite de son analyse en RMN ¹H_{para} dans l'acétone deutérée (Chapitre III, Figure III-15). Néanmoins, nous observons aussi la topologie *trans*, celle-ci pouvant provenir d'un équilibre entre différentes configurations du complexe en milieu aqueux. Ainsi, la structure cristallographique de l'hybride NikA/Fe((S,S)-L2MeC₂O₂H) ne constitue pas une confirmation quant à la configuration du complexe Fe((S,S)-L2MeC₂O₂H) en milieu organique ou aqueux.

✓ *L'hybride NikA/Fe((R,R)-L2diC₂O₂H)*

La Figure IV-7 présente la structure cristallographique du complexe Fe((R,R)-L2diC₂O₂H) au sein de la poche de NikA, et ce, au niveau des sites A et B selon une résolution de 2 Å.

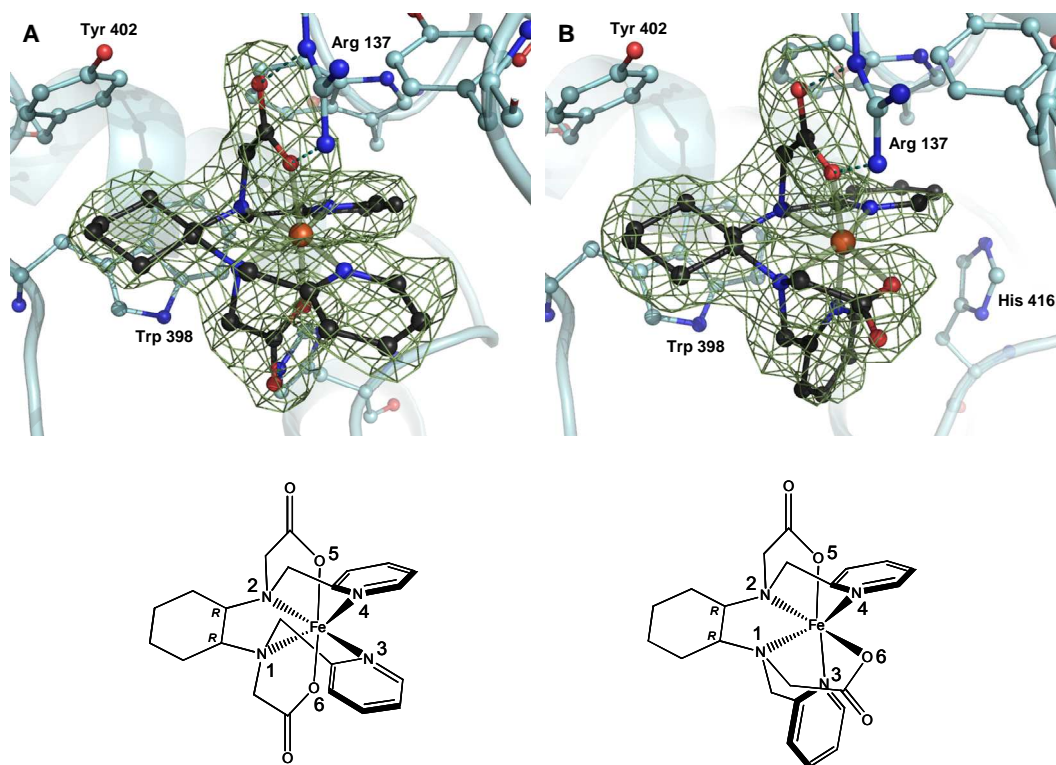


Figure IV-7. Structure cristallographique du complexe Fe((R,R)-L2diC₂O₂H)) dans la poche de NikA au niveau des sites A (Image **A**) et B (Image **B**) avec les cartes omit. Les atomes de carbone du ligand sont colorés en noir et ceux des acides aminés en bleu ciel. Les atomes d'azote sont représentés en bleu, ceux d'oxygène en rouge et l'ion ferrique en orange.

Au même titre que l'hybride NikA/Fe((S,S)-L2MeC₂O₂H), le seul point d'ancrage du complexe Fe((R,R)-L2diC₂O₂H) avec la protéine est constitué par l'interaction d'un groupement carboxylate avec l'arginine 137 selon des liaisons hydrogène, le cyclohexane se trouvant au-dessus du tryptophane 398. Une liaison hydrogène supplémentaire s'établit indirectement avec la tyrosine 406 via une molécule d'eau. Cette orientation du complexe au sein de la poche de NikA est donc due à la présence du cyclohexane. En outre, l'orientation de celui-ci est un peu différente par rapport à celle observée dans le cas précédent (Figure IV-6).

D'un autre côté, nous retrouvons les deux topologies *trans* et *cis*- β pour le ligand **(R,R)-L2diC₂O₂H** dans les site A et B, respectivement. Au niveau du site A, les quatre atomes d'azote sont dans le plan équatorial avec les pyridines en *cis*, et les deux carboxylates occupent les positions apicales selon une orientation *anti* l'un par rapport à l'autre. Dans ce cas, l'ion ferrique est hexacoordiné sans position labile et se trouve dans un environnement pseudo-octaédrique. La distance Fe^{III}-N1 est de 2,06 Å, tandis que celle Fe^{III}-N2 est de 2,14 Å, ce qui est voisin des distances trouvées pour le complexe Fe((S,S)-L2MeC₂O₂H) dans le même site (2,06 et 2,28 Å pour Fe^{III}-N1 et Fe^{III}-N2, respectivement). Quant aux liaisons entre le centre métallique et les pyridines, la longueur est de 2,20 Å pour la liaison Fe^{III}-N3 et de 2,06 Å pour celle Fe^{III}-N4. Pour ce complexe, l'ion ferrique et les pyridines sont plus proches que pour le complexe Fe((S,S)-L2MeC₂O₂H) (2,38 et 2,49 Å pour les liaisons Fe^{III}-N3 et Fe^{III}-N4, respectivement). Pour ce qui est des distances entre le fer et les carboxylates, celles-ci sont respectivement de 2,12 et 2,10 Å pour Fe^{III}-O5 et Fe^{III}-O6. La valeur de ces distances est en accord avec un ion fer(III) haut-spin.

Là encore, les distances trouvées sont plus courtes que celles du complexe Fe((S,S)-L2MeC₂O₂H) dans le site A, où une distance de 2,25 Å sépare le centre ferrique de l'atome d'oxygène O5. Ces distances plus courtes découlent d'une plus grande stabilité du complexe Fe((R,R)-L2diC₂O₂H) du fait de sa symétrie.

En ce qui concerne le complexe dans le site B (Figure IV-7, Image B), la topologie du ligand **(R,R)-L2diC₂O₂H** est *cis*- β , où les deux groupements carboxylate sont en *cis* l'un par rapport à l'autre, avec l'une des pyridines en *trans* par rapport au carboxylate lié à l'arginine. Pareillement au cas du site A, le ligand occupe les six sites de coordination de l'ion fer(III) selon une géométrie octaédrique distordue. La longueur de la liaison Fe^{III}-N1 est de 2,17 Å, tandis qu'elle est de 2,13 Å pour la liaison Fe^{III}-N2, des distances qui sont très proches, contrairement au complexe Fe((S,S)-L2MeC₂O₂H) dans les sites A et B, ainsi que le complexe Fe((R,R)-L2diC₂O₂H) dans le site B. Quant aux distances entre l'ion ferrique et les atomes d'azote des pyridines, elles sont de 2,23 et 2,18 Å pour les liaisons Fe^{III}-N3 et Fe^{III}-N4, respectivement. Ces valeurs sont aussi très proches comparées à celles des autres complexes décrits. Quant aux deux groupements carboxylate, nous trouvons des distances de 2,07 et 2,29 Å pour les liaisons Fe^{III}-O5 et Fe^{III}-O6, respectivement. Comme pour les cas précédents, la valeur des distances atteste d'un ion fer(III) haut-spin.

Les distances au niveau du complexe Fe((R,R)-L2diC₂O₂H)) dans le site B, sont en faveur de la géométrie octaédrique la moins distordue, excepté pour les carboxylates au

niveau desquels la distance $\text{Fe}^{\text{III}}\text{-O6}$ est plus grande que celle $\text{Fe}^{\text{III}}\text{-O5}$. Cette grande distance est vraisemblablement due au positionnement équatorial du carboxylate. En effet, quand ce même carboxylate occupe une position apicale au niveau du ligand **(R,R)-L2diC₂O₂H** en topologie *trans* (Figure IV-7, Image **A**), la distance est plus courte (2,10 contre 2,29 Å). Nous constatons le même phénomène pour le complexe $\text{Fe}((S,S)\text{-L2MeC}_2\text{O}_2\text{H})$ lors du passage de la topologie *trans* à celle *cis-β* (Figure IV-6) au cours duquel la pyridine N3, qui est dans le plan équatorial dans la premier cas, se retrouve en position apicale dans le second cas, avec une longueur de liaison plus grande (2,49 contre 2,68 Å). Nous déduisons de ces considérations que le positionnement apical d'un groupement carboxylate est plus favorable qu'un équatorial, tandis que pour des noyaux pyridine, le positionnement équatorial est le plus favorable. Toutefois, pour ce qui est du complexe $\text{Fe}((R,R)\text{-L2diC}_2\text{O}_2\text{H})$, il n'y a pratiquement pas de changement de longueur de liaison suivant qu'une des deux pyridines soit en position équatoriale ou apicale (2,20 contre 2,23 Å). Il n'en demeure pas moins que la plus grande distance se trouve entre la pyridine et l'ion fer(III) au niveau du complexe $\text{Fe}((S,S)\text{-L2MeC}_2\text{O}_2\text{H})$ en configuration *cis-β*.

En conclusion, ces données cristallographiques nous montrent que les complexes carboxylés se trouvent effectivement au sein du site de fixation de l'ion Ni^{2+} de la protéine NikA tel le complexe $\text{Fe}(\text{EDTA})$. De plus, pour tous les hybrides décrits, à savoir $\text{NikA}/\text{Fe}(\text{L4MeC}_2\text{O}_2\text{H})$, $\text{NikA}/\text{Fe}((S,S)\text{-L2MeC}_2\text{O}_2\text{H})$ et $\text{NikA}/\text{Fe}((R,R)\text{-L2diC}_2\text{O}_2\text{H})$, nous sommes toujours en présence des deux topologies *trans* et *cis-β*, que ce soit dans un même site (hybride $\text{NikA}/\text{Fe}(\text{L4MeC}_2\text{O}_2\text{H})$) ou dans les deux sites A et B, chacun contenant toujours la même configuration.

En outre, les complexes possédant le motif cyclohexanediamine sont orientés différemment de ceux ayant le motif éthylènediamine ; pour preuve, au lieu d'une pyridine située au-dessus du tryptophane 398, nous observons le cyclohexane, ces complexes n'ayant qu'un point d'ancrage au sein de la poche de NikA, qui est l'arginine 327. Nous aurions pu penser en observant le positionnement du complexe $\text{Fe}(\text{L4MeC}_2\text{O}_2\text{H})$ que la topologie *trans* découlait de l'interaction entre l'une des pyridines et le tryptophane 398 selon un π -stacking, mais les complexes possédant le cyclohexane ont infirmé cette hypothèse. Ceci signifie que la configuration du complexe n'est pas dictée par la protéine, mais qu'elle existe déjà en solution. La topologie *cis-β* a été observée pour les complexes $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L2MeC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{FeCl}_4)$ et $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L2diC}_2\text{O}_2\text{H})\text{Cl}](1/2\text{FeCl}_4)$ par RMN $^1\text{H}_{\text{para}}$ en milieu organique ; pour les complexes

$[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_2\text{O}_2\text{H})](\text{FeCl}_4)$ et $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4diC}_2\text{O}_2\text{H})\text{Cl}](1/2\text{FeCl}_4)$, l'interprétation a été plus difficile du fait de la présence de larges pics.

Nous avons, toutefois, découvert pour la première fois que des ligands tétra-azotés linéaires, dérivés du **BPMEN**, peuvent adopter des géométries de coordination *cis*- β et *trans* ; or, seulement deux ligands N_2Py_2 possédant une topologie *trans* ont été décrits.¹⁰ Qui plus est, nous avons observé une topologie *trans* pour **(S,S)-L2MeC₂O₂H** et **(R,R)-L2diC₂O₂H**, deux ligands dérivés du **BPMC**N, dont seules les topologies *cis*- α et *cis*- β ont été répertoriées.^{9,10}

Par ailleurs, il est surprenant que nous n'ayons pas observé de ligand ayant une topologie *cis*- α au sein de la poche de la protéine, sachant que les complexes $\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4diC}_2\text{O}_2\text{H})(\text{ClO}_4)_2$ et $\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L2diC}_2\text{O}_2\text{H})(\text{ClO}_4)_2$ ont une telle configuration. Ceci nous amène à formuler deux hypothèses, à savoir d'une part, que la configuration des complexes de fer(II) change lorsque l'ion ferreux est oxydé, en milieu aqueux, en ion ferrique. Il est envisagé que plusieurs configurations des complexes ferriques soient présentes en phase aqueuse. D'autre part, il se peut que la topologie *cis*- α soit défavorable pour l'entrée du complexe dans la protéine. Par conséquent, la protéine NikA n'imposerait pas la topologie du ligand directement via les interactions avec les acides aminés, mais serait à l'origine d'une sélection entre les différentes configurations, ne laissant entrer au sein de sa poche que celles qui sont *trans* et *cis*- β .

Pour conclure, nous avons mis en évidence la grande versatilité de la protéine NikA, vu les différents complexes inorganiques qu'elle peut accueillir au sein de sa poche.

II- Propriétés catalytiques des hybrides

Après les déterminations structurales et spectroscopiques des hybrides, nous nous sommes intéressés à leurs propriétés fonctionnelles en les testant en catalyse de sulfoxydation. En comparant la réactivité des hybrides à celle des complexes, nous avons mis en évidence des propriétés inhérentes aux monooxygénases artificielles.

Lors des expériences de catalyse, je n'ai utilisé aucun hybride dont le complexe inorganique à motif cyclohexanediamine possède la configuration *R,R*. Par conséquent, dans cette partie, l'information configurationnelle n'apparaîtra pas.

II-1. Catalyse de sulfoxydation

Avec les hybrides, tous les tests de catalyse ont été effectués à l'air et à température ambiante sauf cas mentionné. Ces études se sont déroulées en milieu aqueux, plus précisément en milieu tamponné, de manière à conserver approximativement le même pH au cours de la catalyse, et ce, dans le but d'empêcher, ou du moins de ralentir, la dénaturation de la protéine.

Parmi les différents tampons utilisés, nous avons choisi le tampon HEPES à 10 mM avec un pH de 7, car c'est dans ce milieu que nous avons obtenu la meilleure activité pour les hybrides.

Avant de présenter les résultats de l'activité catalytique des quatre hybrides, il nous a paru plus judicieux de commencer par montrer les propriétés catalytiques d'un hybride uniquement, en comparaison avec celles du complexe seul correspondant, et de la protéine NikA dépourvue de complexe. Le but est de déterminer les aspects fonctionnels d'un hybride, et de regarder, par la suite, si ces caractéristiques sont retrouvées pour les trois autres hybrides afin de mettre en lumière des principes généraux les concernant. Ainsi, dans le Tableau IV-4, sont présentés les résultats provenant de la catalyse du thioanisole, au bout de 15 minutes, avec la protéine NikA, le complexe Fe(L2MeC₂O₂H) et l'hybride NikA/Fe(L2MeC₂O₂H), en utilisant l'hypochlorite de sodium comme oxydant.

| Catalyseur | Rdt _{SO} (%) ^a | Rdt _{SO₂} (%) ^b | Chimiosélectivité (%) ^c | TON _{SO} ^d | ee (%) ^e |
|--|------------------------------------|--|------------------------------------|--------------------------------|---------------------|
| Aucun | 4 | 10 | -37 | - | - |
| NikA | 35 | 27 | 13 | 179 | 0 |
| Fe(L2MeC ₂ O ₂ H) | 24 | 35 | -19 | 122 | 0 |
| NikA/Fe(L2MeC ₂ O ₂ H) | 100 | 0 | 100 | 510 | 11 |

Condition : cat/NaOCl/substrat = 1/1224/510 dans tampon HEPES (10 mM, pH 7). Temps réactionnel = 15 minutes. ^a Rendement en sulfoxyde. ^b Rendement en sulfone. ^c Chimiosélectivité = $[(Rdt_{SO} - Rdt_{SO_2}) / (Rdt_{SO} + Rdt_{SO_2})] \times 100$. ^d Nombre de cycle catalytique vis-à-vis de la production de sulfoxyde. ^e Excès énantiomérique déterminé en GC avec une colonne chirale.

Tableau IV-4. Résultats de la catalyse d'oxydation du thioanisole avec la protéine NikA, le complexe Fe(L2MeC₂O₂H) et l'hybride NikA/Fe(L2MeC₂O₂H) dans le tampon HEPES (10 mM, pH 7) avec NaOCl comme oxydant.

Les résultats concernant les rendements en sulfoxyde et sulfone, ainsi que la chimiosélectivité en fonction de l'espèce utilisée sont illustrés sur la Figure IV-8.

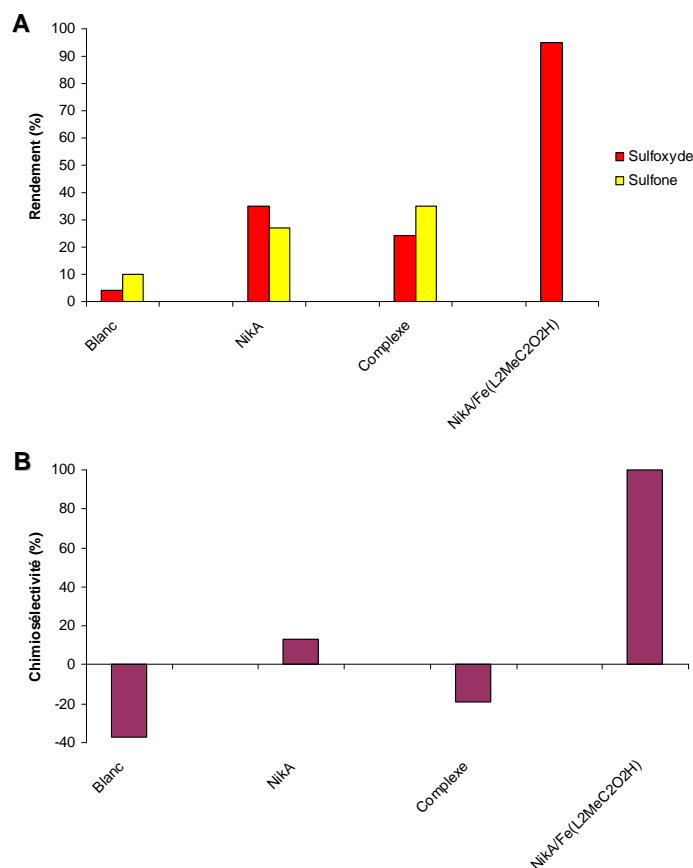


Figure IV-8. Représentations graphiques des rendements obtenus en sulfoxyde et en sulfone en oxydation du thioanisole (**A**) et de la chimiosélectivité pour le sulfoxyde (**B**) selon l'espèce utilisée.

Les résultats du Tableau IV-4 nous montrent l'existence d'une activité catalytique pour la protéine NikA que nous ne soupçonnions pas. De plus, elle permet d'obtenir une plus grande quantité de sulfoxyde qu'avec le complexe Fe(L2MeC₂O₂H) (35 et 24%, respectivement). Ceci dit, les résultats des tests catalytiques effectués avec NikA sont peu reproductibles, les valeurs pouvant baisser de 40% selon les préparations ou la qualité du tampon. Par ailleurs, en faisant la somme des rendements en sulfoxyde et en sulfone pour NikA et le complexe, le résultat est quasiment le même, à savoir 59% pour le complexe Fe(L2MeC₂O₂H) et 62% pour NikA. Toutefois, la proportion entre la quantité de sulfoxyde et celle de sulfone pour la protéine est inverse de celle pour le complexe. En effet, la protéine

NikA fait montre d'une meilleure chimiosélectivité en faveur du sulfoxyde que le complexe Fe(L2MeC₂O₂H) (13 et -19%, respectivement).

Lors des travaux de Ménage et coll., consistant en l'insertion non covalente d'un complexe Mn(salen) au sein de HSA, une activité catalytique en sulfoxydation du thioanisole a été découverte pour cette protéine.¹¹ En outre, des enzymes naturelles dépourvues de tout cofacteur métallique et aptes à catalyser diverses réactions d'oxydation, ont été décrites.¹² Par conséquent, le fait que NikA puisse catalyser l'oxydation d'un thioéther n'a rien de singulier. Nous pouvons supposer que la poche hydrophobe de NikA apporte un effet de confinement favorisant la rencontre entre les réactifs. Nous pourrions également envisager une intervention des acides aminés de la poche sous forme de radicaux nitroxyles ou de chloramines.

Il n'en reste pas moins que le résultat le plus frappant est celui concernant l'hybride NikA/Fe(L2MeC₂O₂H), et pour cause, il y a une production de sulfoxyde avec un rendement qui atteint 100%, et ce, sans aucune trace de sulfone détectée en GC. Ce rendement est supérieur à celui calculé à partir de la quantité totale de produits formés (sulfoxyde et sulfone) lors de la catalyse effectuée avec le complexe et NikA (59 et 62%, respectivement).

A partir de ces données, nous constatons que les propriétés catalytiques de l'hybride NikA/Fe(L2MeC₂O₂H) ne résultent pas de la simple combinaison de celles du complexe Fe(L2MeC₂O₂H) et de celles de la protéine NikA, mais qu'elles sont propres à l'hybride. Cet aspect est typique d'un phénomène de synergie à l'origine de propriétés émergentes. Plus explicitement, l'efficacité catalytique et la sélectivité de l'hybride ne sont pas celles du complexe ni celles de la protéine, mais de l'ensemble constituant l'hybride qui est donc un nouvel objet à part entière possédant ses propres caractéristiques.

Pour ce qui est de la chimiosélectivité, elle peut s'expliquer par l'hydrophobicité du site de fixation du substrat, un tel environnement favorisant l'entrée préférentielle du thioéther qui est moins polaire que le sulfoxyde.¹³

Toutefois, une très faible énantiosélectivité a été observée avec un excès énantiomérique ne dépassant pas 11%. Cet aspect suggère que le complexe n'est pas influencé par la chiralité qui l'environne ou que le substrat prochiral n'est pas reconnu efficacement par le site actif.

Les trois autres hybrides ont été comparés dans les mêmes conditions de catalyse afin de savoir si nous retrouverions les mêmes propriétés que celles de l'hybride NikA/Fe(L2MeC₂O₂H) (Tableau IV-5).

| Catalyseur | Rdt _{SO} (%) | Rdt _{SO2} (%) | Chimiosélectivité (%) | TON _{SO} | ee (%) |
|--|-----------------------|------------------------|-----------------------|-------------------|--------|
| Aucun | 4 | 10 | -37 | - | - |
| NikA | 35 | 27 | 13 | 179 | 0 |
| Fe(L4MeC ₂ O ₂ H) | 24 | 23 | 2 | 122 | - |
| NikA/Fe(L4MeC ₂ O ₂ H) | 49 | 0 | 100 | 250 | 11 |
| Fe(L4diC ₂ O ₂ H) | 47 | 42 | 6 | 240 | - |
| NikA/Fe(L4diC ₂ O ₂ H) | 82 | 2 | 95 | 418 | 7 |
| Fe(L2diC ₂ O ₂ H) | 16 | 33 | -35 | 82 | 0 |
| NikA/Fe(L2diC ₂ O ₂ H) | 44 | 4 | 83 | 224 | 7 |

Condition : cat/NaOCl/substrat = 1/1224/510 dans tampon HEPES (10 mM, pH 7). Temps réactionnel = 15 minutes.

Tableau IV-5. Résultats de la catalyse d'oxydation du thioanisole, au bout de 15 minutes, avec les hybrides NikA/Fe(L4MeC₂O₂H), NikA/Fe(L4diC₂O₂H) et NikA/Fe(L2diC₂O₂H) dans le tampon HEPES (10 mM, pH 7) avec NaOCl comme oxydant.

Pour une meilleure comparaison entre les différents hybrides, les propriétés catalytiques concernant la réactivité et la chimiosélectivité ont été reportées sur deux histogrammes séparément (Figure IV-9).

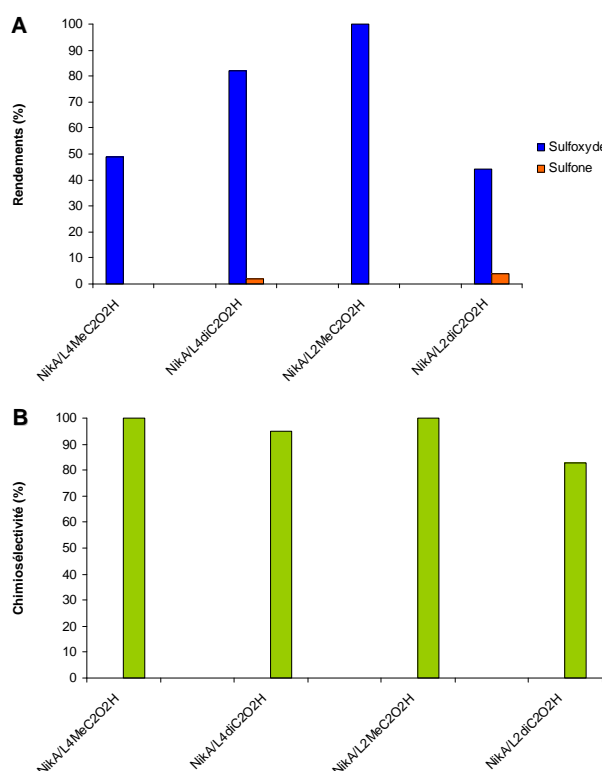


Figure IV-9. Représentation graphique des rendements obtenus en sulfoxyde et en sulfone (A) ainsi que de la chimiosélectivité (B) lors de la catalyse d'oxydation du thioanisole en fonction des différents hybrides.

Les hybrides NikA/Fe(L4MeC₂O₂H), NikA/Fe(L4diC₂O₂H) et NikA/Fe(L2diC₂O₂H) sont tous trois plus efficaces que les complexes correspondants en ce qui concerne la production de sulfoxyde. Toutefois, en considérant le rendement global – qui est la somme des rendements en sulfoxyde et sulfone –, celui des complexes est proche voire supérieur à ceux des hybrides associés. Pour preuve, dans le cas de l'hybride NikA/Fe(L4MeC₂O₂H), le rendement global est de 49%, et celui apporté par le complexe Fe(L4MeC₂O₂H) est de 47%. Quant à l'hybride NikA/Fe(L4diC₂O₂H), nous trouvons un rendement global de 84% contre 89% pour le complexe Fe(L4diC₂O₂H). Le rendement global apporté par le complexe Fe(L2diC₂O₂H) est proche de celui apporté par l'hybride NikA/Fe(L2diC₂O₂H) (49 et 48%, respectivement). Ainsi, l'activité catalytique en oxydation du thioanisole est semblable pour les complexes et les hybrides, démontrant que l'activité catalytique des complexes n'est pas altérée suite à leur incorporation au sein de la poche de la protéine. Nous en déduisons que les approches de l'oxydant et du substrat ne sont pas affectées par la partie protéique. Nous pouvons avancer que cette adaptation est possible grâce à la versatilité de NikA.

La différence entre les propriétés catalytiques des complexes et des hybrides se trouve au niveau de la sélectivité. En effet, pour les hybrides, la conversion du thioanisole est en faveur du sulfoxyde ; la production en sulfone atteint, au maximum, un rendement de 4% avec l'hybride NikA/Fe(L2diC₂O₂H), tandis que dans le cas des complexes, ce rendement peut être de 42% pour le complexe Fe(L4diC₂O₂H).

De même, nous constatons que plus la réactivité du complexe est importante, plus celle de l'hybride associé l'est aussi, ce qui implique l'existence d'une relation entre l'activité du complexe et celle de l'hybride. Par conséquent, l'activation de l'oxydant est bien due au complexe métallique inséré et non à quelque résidu de la protéine, auquel cas nous retrouverions toujours la même activité quelque soit le complexe inorganique utilisé pour l'élaboration de l'hybride.

Néanmoins, ces éléments de comparaison ne valent pas pour l'hybride NikA/Fe(L2MeC₂O₂H). En effet, d'une part, le rendement global que nous trouvons pour le complexe Fe(L2MeC₂O₂H) est bien inférieur à celui de l'hybride (59 contre 100%). D'autre part, le complexe Fe(L4diC₂O₂H) présente la meilleure réactivité en milieu tamponné (Tableaux IV-4 et IV-5) ; néanmoins, la réactivité de l'hybride NikA/Fe(L4diC₂O₂H) est inférieure à celle de l'hybride NikA/Fe(L2MeC₂O₂H). En conséquence, l'hybride NikA/Fe(L2MeC₂O₂H) ne semble pas apparenté aux trois autres hybrides, si ce n'est une très bonne chimiosélectivité en faveur du sulfoxyde.

La Figure IV-9, et plus particulièrement l'histogramme **A**, nous montre que les hybrides NikA/Fe(L2MeC₂O₂H) et NikA/Fe(L4diC₂O₂H) sont les deux catalyseurs possédant la meilleure activité catalytique en sulfoxydation avec néanmoins une moins bonne sélectivité pour ce dernier. Quant aux hybrides NikA/Fe(L4MeC₂O₂H) et NikA/Fe(L2diC₂O₂H), ce sont les moins efficaces avec toutefois une meilleure chimiosélectivité pour le premier.

Au premier abord, ces résultats paraissent déconcertants dans le sens où il est difficile de relier la différence de réactivités des hybrides à des aspects structuraux ou électroniques. En effet, bien que le complexe Fe(L4MeC₂O₂H) ait la meilleure affinité pour la protéine NikA, l'hybride résultant n'est pas le plus efficace, et le plus actif (NikA/Fe(L2MeC₂O₂H)) est celui dont le complexe possède la moins bonne affinité pour la protéine. D'autre part, la réactivité n'est pas non plus reliée au nombre de carboxylates, sachant que l'hybride le moins efficace (NikA/Fe(L2diC₂O₂H)) ainsi que celui qui est l'un des plus actifs (NikA/Fe(L4diC₂O₂H)) en ont deux. La présence ou non du cyclohexane n'explique pas non plus les différentes réactivités observées, puisque le catalyseur le plus actif et celui le moins actif en possèdent un tous les deux. Cependant, les hybrides correspondants n'ont pas la même réactivité vu que l'hybride NikA/Fe(L4diC₂O₂H) est plus efficace que l'hybride NikA/Fe(L4MeC₂O₂H). Pour ce qui est des hybrides NikA/Fe(L2MeC₂O₂H) et NikA/Fe(L2diC₂O₂H), leurs composantes inorganiques ont toutes deux soit une topologie *trans*, soit une topologie *cis*-β (Figures IV-6 et IV-7) ; pourtant, le premier hybride est le plus performant contrairement au second qui est le moins efficace.

En solution organique, en présence de peroxyde d'hydrogène ou d'hypochlorite de sodium, la réactivité des complexes est très faible puisque les meilleurs rendements en sulfoxyde et en sulfone sont obtenus avec le complexe [Fe(L2MeC₂O₂H)](FeCl₄), ceux-ci étant de 19 et 9%, respectivement (Chapitre III, Tableau III-9). Ainsi, la protéine a une influence sur la structure électronique des complexes, qui pourrait se traduire par une variation des distances observée. En effet, comme nous l'avons constaté pour l'hybride NikA/Fe(L2MeC₂O₂H), le complexe présent dans le site B (Figure IV-6, Image **B**), dont le ligand est en *cis*-β, possède une pyridine très éloignée de l'ion ferrique (2,68 Å), laissant ainsi supposer l'existence d'un site labile supplémentaire. Par conséquent, la présence de deux sites labiles expliquerait que l'hybride correspondant soit le catalyseur le plus efficace. Dans le cas de l'hybride NikA/Fe(L2diC₂O₂H), nous avons seulement obtenu la structure de celui contenant le complexe dont le ligand est de configuration *R,R*. Il n'empêche que nous avons observé qu'au niveau du complexe Fe((*R,R*)-L2diC₂O₂H) – tant pour les topologies *trans* et *cis*-β – les distances sont assez courtes comparées aux autres complexes, et que le centre

métallique du complexe en *cis*- β est dans une géométrie octaédrique qui n'est pas trop distordue. Tous ces éléments attestent d'une certaine stabilité pour ledit complexe, avec les six sites de coordination de l'ion ferrique occupés par le ligand. Nous pouvons supposer qu'il en va de même pour l'hybride correspondant au complexe ayant la configuration *S,S*, expliquant dès lors sa faible réactivité par rapport aux autres hybrides. Pour ce qui est de l'hybride NikA/Fe(L4MeC₂O₂H), le ligand occupe cinq positions de coordination du fer, laissant seulement un site échangeable, d'où son activité intermédiaire vis-à-vis de celle des hybrides NikA/Fe(L2diC₂O₂H) et NikA/Fe(L2MeC₂O₂H). Quant à l'hybride NikA/Fe(L4diC₂O₂H), nous ne pouvons établir de relation entre son activité et ses aspects structuraux, étant donné que nous ne possédons pas de structure cristallographique de bonne qualité.

En ce qui concerne la chimiosélectivité, tous les hybrides en présentent une qui est excellente (Histogramme **B**), la meilleure (100%) étant obtenue avec les hybrides possédant un complexe inorganique dont le ligand n'a qu'un seul groupement carboxylate. Nous avons donc dans ce cas une relation entre la chimiosélectivité apportée par les hybrides et la structure des complexes métalliques associés.

Dans le but d'approfondir la comparaison entre les caractéristiques fonctionnelles des différents hybrides, nous avons étudié leurs propriétés catalytiques au cours du temps, comme le montre la Figure IV-10.

Nous constatons que l'hybride NikA/Fe(L2MeC₂O₂H) est le catalyseur le plus rapide, pour preuve il donne un rendement de 83% en sulfoxyde en cinq minutes sans production de sulfone. L'hybride NikA/Fe(L4diC₂O₂H) est le deuxième catalyseur le plus efficace avec l'obtention d'un rendement de 78% en sulfoxyde au bout de cinq minutes pour atteindre un plateau de 82% au bout de quinze minutes. Néanmoins, ce n'est pas l'hybride le plus sélectif même si le plateau de production de sulfone est atteint dès la première minute (2%).

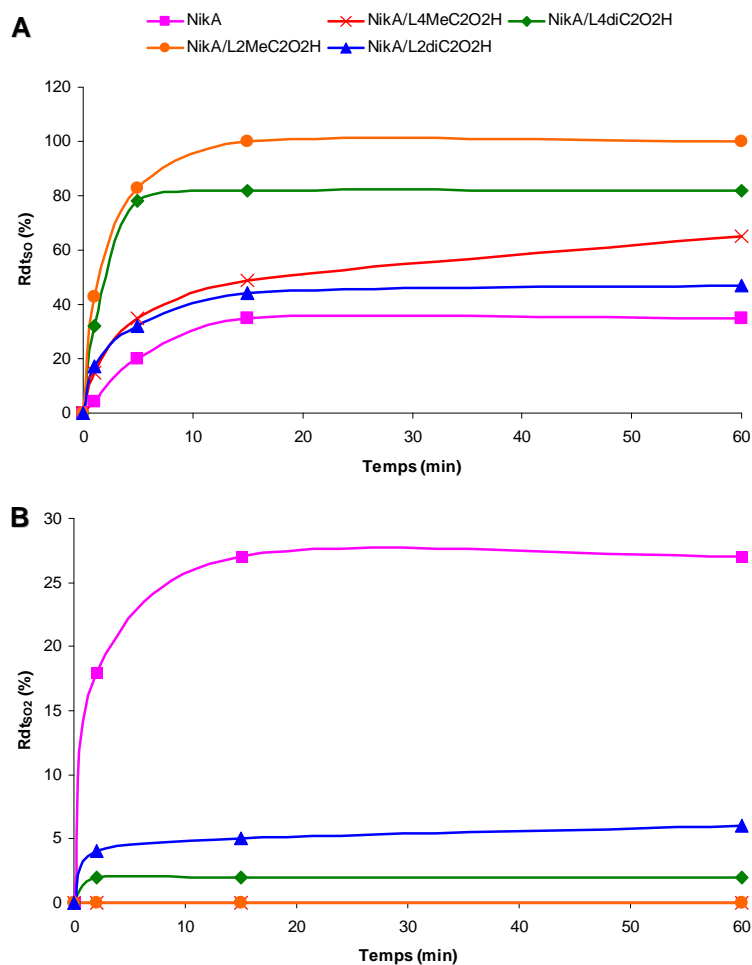


Figure IV-10. Production de sulfoxyde (**A**) et de sulfone (**B**) en fonction du temps lors de l'oxydation du thioanisole par NaOCl dans le tampon HEPES (10 mM, pH 7) catalysée par les hybrides et NikA.

Nous remarquons que tous les hybrides, à l'exception de NikA/Fe(L4MeC₂O₂H), atteignent un plateau au bout de quinze minutes sans apporter pour autant une conversion de 100% du substrat en thioanisole, l'exemple le plus probant étant représenté par l'hybride NikA/Fe(L2diC₂O₂H) qui ne fournit au maximum que 47% de sulfoxyde accompagné de 6% de sulfone. Celui-ci est le catalyseur le moins efficace tant du point de vue de la production de sulfoxyde que de la sélectivité.

Quant à l'hybride NikA/Fe(L4MeC₂O₂H), malgré qu'il n'atteigne pas de plateau, il n'y a pas production concomitante de sulfone. A ce titre, il constitue avec l'hybride NikA/Fe(L2MeC₂O₂H) les deux catalyseurs les plus sélectifs. Néanmoins, il fait partie des deux catalyseurs les moins efficaces avec l'hybride NikA/Fe(L2diC₂O₂H) du point de vue de la production de sulfoxyde.

Pour ce qui est de la protéine NikA seule, malgré une réactivité non négligeable (20% de sulfoxyde au bout de 5 minutes et 35% au bout de 15 minutes), elle présente de loin la moins bonne chimiosélectivité avec une production de sulfone qui atteint un rendement de 18% au bout d'une minute contre 4% pour l'hybride NikA/Fe(L2diC₂O₂H). Cette formation de sulfone atteint son maximum à 15 minutes comme pour celle de sulfoxyde (Rdt_{SO} = 35% et Rdt_{SO₂} = 27%). Il n'en reste pas moins que dès 1 minute, la somme des rendements de la production de sulfoxyde et de sulfone atteint 22%, ce qui est supérieur à l'hybride NikA/Fe(L4MeC₂O₂H) (15%) et très proche de l'hybride NikA/Fe(L2diC₂O₂H) (21%). Ainsi, malgré la très mauvaise sélectivité de la protéine NikA, sa réactivité est loin d'être négligeable. Cependant, sa cinétique vis-à-vis de la production de sulfoxyde reste bien inférieure à celle des hybrides NikA/Fe(L4diC₂O₂H) et NikA/Fe(L2MeC₂O₂H).

Nous avons ensuite voulu apprécier la stabilité de ces catalyseurs, et plus particulièrement de l'un des plus efficaces, à savoir l'hybride NikA/Fe(L4diC₂O₂H). Pour ce faire, nous avons tout d'abord effectué un test catalytique puis, au bout de 15 minutes, nous avons rajouté au milieu catalytique les mêmes quantités de substrat et d'oxydant que celles utilisées au départ, cette opération étant réitérée trois fois. Les résultats de cette expérience sont répertoriés sur le Tableau IV-6.

| | Cat/NaOCl/substrat | Rdt _{SO} (%) | Rdt _{SO₂} (%) | Sélectivité (%) | TON _{SO} ^a |
|-----------------------------|--------------------|-----------------------|-----------------------------------|-----------------|--------------------------------|
| 1^{er} tour | 1/1224/510 | 74 | 2 | 95 | 377 |
| 2^{ème} tour | 1/1898/650 | 74 | 8 | 80,5 | 481 |
| 3^{ème} tour | 1/2493/860 | 59 | 15 | 59 | 507 |
| 4^{ème} tour | 1/4030/1380 | 55 | 17 | 53 | 759 |

Condition : Tampon HEPES (10 mM, pH 7). Temps réactionnel = 15 minutes.

^a Nombre de cycle catalytique pour chaque tour.

Tableau IV-6. Résultats obtenus toutes les 15 minutes lors du test de stabilité de l'hybride NikA/Fe(L4diC₂O₂H) lors de la catalyse d'oxydation du thioanisole dans le tampon HEPES (10 mM, pH 7) avec NaOCl comme oxydant.

La détermination du nombre de cycle catalytique à chaque tour prend en compte la variation des quantités en substrat et en hybride. Pour chacun des tours, la proportion cat/NaOCl/substrat est différente comme le montre le Tableau IV-6. Les calculs sont détaillés dans la partie expérimentale.

Le premier rajout de substrat et d'oxydant n'affecte pas l'efficacité catalytique de l'hybride NikA/Fe(L4diC₂O₂H) ; en effet, nous obtenons le même rendement en sulfoxyde que celui du premier tour. Toutefois, nous remarquons une légère baisse de la sélectivité qui se traduit par une production de 8% de sulfone contre 2% au premier tour.

Ces données nous font considérer que l'activité du catalyseur diminue car les rendements en sulfoxyde décroissent. Or, en tenant compte du nombre de cycle catalytique, correspondant à la production de sulfoxyde (TON_{SO}), nous nous rendons compte qu'il n'en est rien (Figure IV-11).

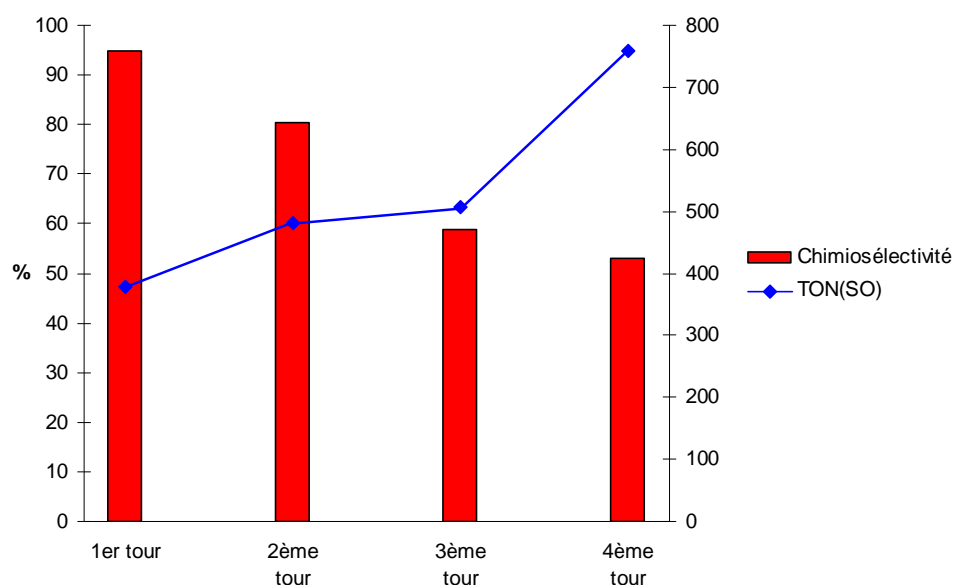


Figure IV-11. Evolution du nombre de cycle catalytique vis-à-vis de la sulfoxydation et de la chimiosélectivité lors du test de stabilité de l'hybride NikA/Fe(L4diC₂O₂H) en oxydation du thioanisole avec NaOCl comme oxydant.

La courbe bleue de la Figure IV-11 indique l'augmentation du nombre de cycles catalytiques au fur et à mesure de l'ajout de substrat et d'oxydant toutes les 15 minutes jusqu'à atteindre 759 pour le quatrième tour, où il y a un large excès d'oxydant (Tableau IV-5). Le maintien de l'activité de l'hybride, selon quatre tours successifs, implique une stabilité de ce catalyseur dans ces conditions.

Par contre, nous observons une baisse de la chimiosélectivité qui devient significative au bout du troisième tour. Au cours de cette expérience, il se peut que la concentration en hybride devienne proche voire inférieure au K_d, induisant la sortie du complexe de la protéine, ce qui expliquerait l'augmentation de la quantité de sulfone. Or, la concentration en

hybride est de 31 et 26 μM pour les troisième et quatrième tours, respectivement. Ces concentrations restant très supérieures au K_d de l'hybride NikA/Fe(L4diC₂O₂H), qui est de 3,4 μM , la baisse de la chimiosélectivité ne peut s'expliquer par la sortie du complexe autrement que par une détérioration de l'hybride.

Cette baisse de chimiosélectivité peut aussi s'expliquer par l'augmentation de la concentration de sulfoxyde, celui-ci devenant plus facilement oxydable en sulfone par l'hybride, d'où l'augmentation de la quantité de sulfone. Qui plus est, l'excès en hypochlorite de sodium étant de plus en plus important, la réaction non catalysée peut devenir représentative.

Bien que les phénomènes que nous avons évoqués aient lieu, il n'en reste pas moins que l'hybride NikA/Fe(L4diC₂O₂H) est relativement stable vu les fortes conditions oxydantes dans lesquelles il se trouve.

Malgré les avantages non négligeables apportés par ces catalyseurs, aucun d'entre eux ne nous donne d'excès énantiomérique dépassant 11%. Cette très faible énantiosélectivité provient très probablement de contraintes stériques insuffisantes lors de l'approche du thioanisole vers le site actif. Aussi avons-nous employé un substrat plus volumineux, le naphthylméthylsulfure, pour accéder à une meilleure énantiodiscrimination (Schéma IV-1).

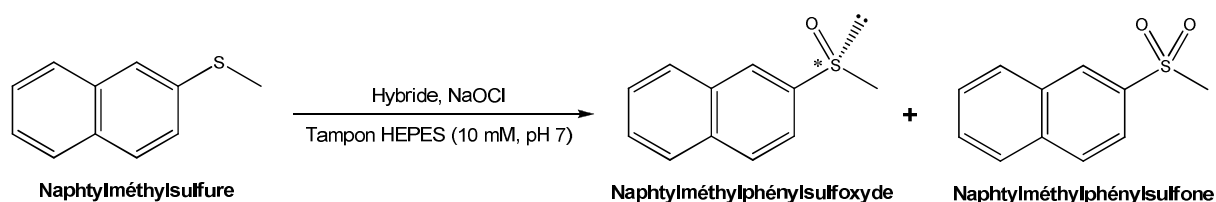


Schéma IV-1. Catalyse d'oxydation du naphthylméthylsulfure effectuée par les hybrides dans le tampon HEPES (10 mM, pH 7) en utilisant comme oxydant NaOCl.

La mauvaise solubilité de ce substrat dans le tampon HEPES nous a obligé à utiliser des co-solvants organiques tels que l'acétonitrile, l'éthanol et le DMF. Nous avons utilisé *in fine* le méthanol et avons laissé le milieu catalytique sous agitation pendant 14 heures. Nous avons obtenu à cette issue un rendement de 37% pour le sulfoxyde (189 TON) sans trace de sulfone détectable. Malheureusement, nous n'avons pas obtenu un meilleur excès énantiomérique.

Pour améliorer l'énantiosélectivité, nous avons aussi effectué un test catalytique avec l'hybride NikA/Fe(L4MeC₂O₂H) à 12 et 4°C (Tableau IV-7).

| T° (°C) | Rdt _{SO} (%) | Rdt _{SO2} (%) | Chimiosélectivité (%) | TON _{SO} | ee (%) |
|---------|-----------------------|------------------------|-----------------------|-------------------|--------|
| T°amb | 49 | 0 | 100 | 250 | 11 |
| 12 | 69 | 0 | 100 | 352 | < 10 |
| 4 | 31 | 5 | 72 | 158 | < 10 |

Condition : cat/NaOCl/substrat = 1/1224/510 dans tampon HEPES (10 mM, pH 7). Temps réactionnel = 15 minutes.

Tableau IV-7. Résultats de l'oxydation du thioanisole catalysée par l'hybride NikA/Fe(L4MeC₂O₂H), au bout de 15 minutes, dans le tampon HEPES (10 mM, pH 7) avec NaOCl comme oxydant, selon différentes températures.

Les résultats présentés sur le Tableau IV-7 nous montrent que la catalyse effectuée à basse température ne permet pas d'atteindre de meilleurs excès énantiomériques. Ceci dit, nous avons eu la surprise de découvrir une meilleure réactivité de l'hybride à 12°C avec un rendement de 69% en sulfoxyde et une chimiosélectivité de 100%. Ce résultat est surprenant sachant qu'une cinétique de réaction varie de manière inverse à la température. Toutefois, lorsque la catalyse se déroule à 4°C, l'activité de l'hybride est moindre (Rdt_{SO} = 31%) ainsi que la chimiosélectivité (72% au lieu de 100%). Cette baisse de la chimiosélectivité suggère une dégradation de l'hybride, celle-ci devant être toutefois partielle, étant donné que nous conservons une très bonne chimiosélectivité. Il se peut aussi que la réaction catalysée soit ralentie davantage que celle qui ne l'est pas, d'où les baisses du rendement et de la chimiosélectivité.

II-2. Catalyse d'époxydation : résultats préliminaires

Les tests de catalyse ont été effectués à l'air et à température ambiante, selon les mêmes conditions qu'en catalyse de sulfoxydation, excepté qu'au lieu d'utiliser de l'hypochlorite de sodium, nous nous sommes servis de peroxyde d'hydrogène, un oxydant moins nocif. Nous avons effectué des tests sur le cyclooctène avec l'hybride NikA/Fe(L4MeC₂O₂H) (Tableau IV-8). Suite à des problèmes de solubilité et d'extraction du substrat, nous avons ajouté 25,5 µmol de cyclooctène directement dans le milieu catalytique sans utiliser de co-solvant.

| | Temps (min) | Rdt _{époxy} (%) | Rdt _{diol} (%) | Chimiosélectivité (%) | TON _{époxy} |
|---|-------------|--------------------------|-------------------------|-----------------------|----------------------|
| Blanc | 1 | 1,60 | 7,70 | -66 | - |
| | 5 | 1,90 | 6,30 | -54 | - |
| | 15 | 2,20 | 5,80 | -45 | - |
| | 60 | 1,55 | 5,80 | -58 | - |
| Hybride NikA/Fe(L4MeC₂O₂H) | 1 | 2,20 | 8,00 | -57 | 12 |
| | 5 | 2,25 | 7,90 | -57 | 13 |
| | 15 | 2,40 | 8,30 | -55 | 13 |
| | 60 | 2,20 | 8,20 | -58 | 12 |

Condition : cat/H₂O₂/substrat = 1/560/5100 dans tampon HEPES (10 mM, pH 7).

Tableau IV-8. Résultats de la catalyse d'oxydation du cyclooctène en fonction du temps dans le tampon HEPES (10 mM, pH 7) avec H₂O₂ comme oxydant.

Dans ce cas, le rendement a été calculé par rapport au peroxyde d'hydrogène, sachant que c'est le réactif limitant. Par ailleurs, le nombre de cycle catalytique n'a été calculé qu'en tenant compte de la quantité d'époxyde formée, car nous ne savons pas si la présence de diol est due au catalyseur ou si elle résulte de l'hydrolyse de l'époxyde, étant donné que la catalyse se réalise en milieu aqueux.

Les données provenant de l'expérience de catalyse du cyclooctène avec l'hybride NikA/Fe(L4MeC₂O₂H) montrent des résultats infructueux, dans le sens où les rendements obtenus, tant au niveau de la formation d'époxyde que de celle de diol, sont à peine supérieurs à ceux obtenus en condition sans catalyseur. Il en va de même pour la sélectivité.

Ainsi, l'hybride semble inerte face à un alcène, ce qui est surprenant en sachant que le complexe seul est actif vis-à-vis des alcènes avec le peroxyde d'hydrogène, du moins dans l'acétonitrile. Par ailleurs, des tests de catalyse de sulfoxydation ont été effectués en utilisant le peroxyde d'hydrogène au lieu de l'hypochlorite de sodium, mais aucune activité de l'hybride n'a été observée. Par conséquent, il semble que ce soit la nature de l'oxydant qui soit en cause et non le type de substrat. Pour approfondir cet aspect, il aurait fallu réaliser des études d'oxydation d'alcènes avec les complexes inorganiques dans le milieu aqueux contenant le tampon HEPES (10 mM, pH 7), et ce, aussi bien avec le peroxyde d'hydrogène qu'avec l'hypochlorite de sodium. Malheureusement, ces expériences n'ont pu être faites faute de temps. Toutefois, celles-ci seront à faire dans l'avenir pour savoir si c'est ce milieu qui a un effet délétère sur le peroxyde d'hydrogène.

III. Conclusion

Nous avons élaboré quatre catalyseurs hybrides bio-inorganiques en associant un complexe de fer à ligands carboxylate à la protéine NikA. Ceux-ci se sont montrés actifs et chimiosélectifs en catalyse d'oxydation du thioanisole dans le tampon HEPES (10 mM, pH 7), mais seulement avec l'hypochlorite de sodium. Nous avons montré, par ailleurs, que l'un des hybrides les plus performants est stable dans un milieu oxydant fort, avec une activité qui ne faiblit pas. La création de monooxygénases artificielles est donc validée. La principale caractéristique de ces catalyseurs est que leur activité n'est pas simplement liée à la somme des propriétés des éléments qui les composent. Nous n'avons obtenu les structures cristallographiques que pour trois d'entre eux, avec seulement deux possédant une bonne résolution. Il n'en reste pas moins que celles-ci nous ont révélé des géométries de coordination jamais observées, ou rarement, pour les ligands de type N_2Py_2 . De plus, la structure cristallographique des hybrides nous a permis, en partie, d'expliquer la différence de réactivité observée. L'hybride le plus performant est celui pour lequel le centre métallique du complexe posséderait deux sites labiles, les autres complexes étant penta- ou hexacoordinés, ne laissant donc qu'un seul site labile, voire aucun. Par contre, nous n'avons pas obtenu la structure cristallographique de l'un des deux hybrides les plus actifs et chimiosélectifs, ce qui ne nous permet pas de confirmer notre hypothèse. Néanmoins, il semble que les distances entre le centre métallique et les atomes de la première sphère de coordination soient essentielles pour rendre compte des différences de réactivités.

Enfin, nous ne sommes pas parvenus à obtenir d'excès énantiomérique dépassant 11%, et ce, malgré de nombreuses tentatives. Cette faible énantiodiscrimination peut s'expliquer par la taille très inférieure des complexes comparée à celle de la poche de la protéine, dont les dimensions sont d'environ $28 \times 13 \times 14 \text{ \AA}^3$ (Figure IV-12). Ces valeurs sont très approximatives étant donné que la poche de NikA est plus un "canyon" qu'une cavité.

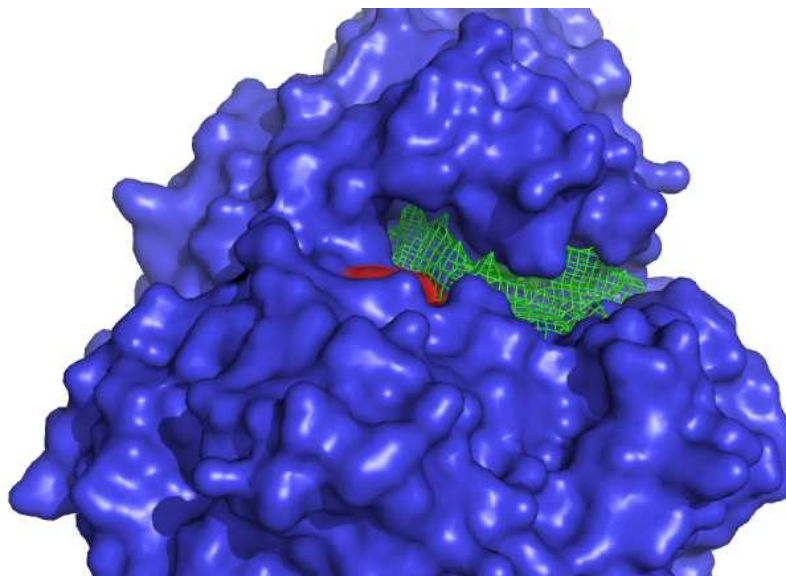


Figure IV-12. Vue d'un hybride préparé avec NikA mettant en évidence la cavité de la protéine (grillage vert) et le complexe (rouge). La partie protéique est colorée en bleu.

Cette difficulté à améliorer l'énantiosélectivité de la catalyse de sulfoxydation nous a incité à collaborer avec Patricia Amara du LCCP afin d'effectuer du docking dans le but de trouver le motif structural que doit posséder le substrat pour que celui-ci se fixe au plus près du site actif de l'hybride. Parmi une pléthore de thioéthers issus de la banque de données Zinc, proposée par l'Université de Californie, à San Francisco, les molécules retenues sont très volumineuses avec pour motif structural commun un atome de soufre entouré d'un aryle et d'une fonction amide (Figure IV-13). Il est à préciser que ce motif est présent au niveau de la structure de molécules d'intérêt pharmaceutique.

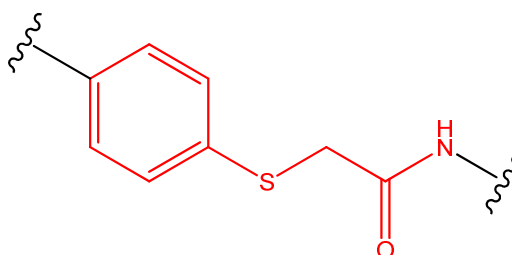


Figure IV-13. Structure du motif minimum au niveau des substrats (rouge) choisis suite à des études de docking pour l'obtention d'une meilleure énantiosélectivité.

Les fonctions amines et amides au niveau de ces molécules permettront leur interaction avec des acides aminés de la protéine favorisant une meilleure orientation pour avoir une catalyse asymétrique.

D'un autre côté, une autre piste est explorée ; celle-ci consiste à élaborer d'autres hybrides en utilisant comme plateforme protéique l'albumine sérique humaine (HSA). Dans ce cas, les complexes possédant au niveau de leurs ligands les ancres ibuprofène (Ibu) et triiodobenzoate (TIB) seront incorporés au sein de cette protéine selon la stratégie du "Cheval de Troie", en espérant obtenir avec ces biocatalyseurs de meilleurs excès énantiomériques accompagnés d'une chimiosélectivité et d'une activité catalytique du même ordre de grandeur que celles des hybrides élaborés avec la protéine NikA. A ce jour, les complexes ont été synthétisés.

Références :

- (1) Fish, W. W. *Methods in Enzymology* **1988**, *158*, 357-364.
- (2) Elliott, J. I.; Brewer, J. M. *Archives of Biochemistry and Biophysics* **1978**, *190*, 351-357.
- (3) Ménage, S.; Que, L., Jr. *New J. Chem.* **1991**, *15*, 431-438.
- (4) Sun, F.; Zong, W.; Liu, R.; Chai, J.; Liu, Y. *Spectrochim. Acta A: Mol. Biomol. Spectrosc.* **2010**, *76*, 142-145.
- (5) Pain, R. H. *Curr. Protoc. Protein Sci.* **2005**, *7*.
- (6) Burstein, E. A.; Vedenkin, N. S.; Ivkova, M. N. *Photochem, Photobiol.* **1973**, *18*, 263-279.
- (7) Parikh, H. H.; McElwaine, K.; Balasubramanian, V.; Leung, W.; Won, D.; Morris, M. E.; Ramanathan, M. *Pharm. Res.* **2000**, *17*, 632-637.
- (8) Cherrier, M. V.; Martin, L.; Cavazza, C.; Jacquamet, L.; Lemaire, D.; Gaillard, J.; Fontecilla-Camps, J. C. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 10075-10082.
- (9) Costas, M.; Que, L., Jr. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 2179-2181.
- (10) Mas-Ballesté, R.; Costas, M.; van den Berg, T.; Que, L., Jr. *Chem. Eur. J.* **2006**, *12*, 7489-7500.
- (11) Rousselot-Pailley, P.; Bochot, C.; Marchi-Delapierre, C.; Jorge-Robin, A.; Martin, L.; Fontecilla-Camps, J. C.; Cavazza, C.; Ménage, S. *ChemBioChem* **2009**, *10*, 545-552.
- (12) (a) Fetzner, S. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2002**, *60*, 243-257. (b) Widboom, P. F.; Fielding, E. N.; Liu, Y.; Bruner, S. D. *Nature* **2007**, *447*, 342-345. (c) Grocholski, T.; Koskiniemi, H.; Lindqvist, Y.; Mäntsälä, P.; Niemi, J.; Schneider, G. *Biochemistry* **2010**, *49*, 934-944.
- (13) Zhang, J.-L.; Garner, D. K.; Liang, L.; Chen, Q.; Lu, Y. *Chem. Commun.* **2008**, 1665-1667.

Chapitre V. Conclusion générale et discussion

La synthèse de molécules chirales de façon catalytique reste un défi majeur de la chimie actuelle. Au niveau principalement des domaines pharmaceutique et agroalimentaire, deux stratégies prédominent, à savoir d'une part, la catalyse homogène à base de complexes métalliques, et d'autre part, la biocatalyse utilisant des enzymes naturelles, cette dernière étant plus en accord avec les principes de la "chimie verte". Néanmoins, ces deux stratégies ont leurs limites ; c'est pourquoi nous avons choisi de mettre au point de nouveaux catalyseurs conciliant les avantages propres aux deux domaines. Il s'agit de métalloenzymes artificielles résultant de l'introduction d'un complexe métallique actif au sein de la poche hydrophobe d'une protéine apte à contenir ledit complexe. Au niveau de ces hybrides bio-inorganiques, la charpente protéique dirige la sélectivité de la réaction, tandis que le complexe inséré est responsable du type de réactivité. L'avantage majeur de ces catalyseurs hybrides est la possibilité d'une optimisation des réactions catalysées par ceux-ci au niveau de la protéine par mutagenèse dirigée et au niveau du complexe inorganique par "mutagenèse chimique".

Dans ce contexte, et plus précisément celui de la catalyse d'oxydation asymétrique, mes travaux de thèse ont consisté en l'élaboration d'hybrides avec la protéine bactérienne NikA et des complexes de fer possédant des ligands pourvus de fonctions carboxyle pour leur reconnaissance par cette protéine. En effet, les travaux de M. Cherrier ont montré que cette protéine est capable de reconnaître le complexe Fe(EDTA), via son site de fixation pour l'ion Ni^{2+} , par des liaisons hydrogène entre les carboxylates du ligand et certains acides aminés de la protéine. La découverte de ces interactions non covalentes nous ont amené à substituer les groupements méthyle des ligands **BPMEN** et **BPMC**N par un ou deux groupements carboxyle. Ces ligands ont été choisis en vertu de leur motif de coordination de type N_2Py_2 (deux amines et deux pyridines), qui s'est montré favoriser une chimie centrée sur le métal, évitant ainsi l'obtention de produits d'oxydation secondaires provenant d'une chimie radicalaire non sélective. La substitution par un seul groupement carboxyle a peu d'influence sur l'activité des catalyseurs ; par contre, la présence de deux carboxyles inhibe totalement la réactivité des complexes. Par ailleurs, nous avons constaté que l'ajout de groupements carboxyle sur ces ligands apporte des propriétés singulières aux complexes correspondants. En effet, l'obtention de la structure cristallographique d'un complexe, dont le ligand possède deux groupements carboxyle, nous a montré que ces deux groupements restent protonés suite à la coordination de l'ion fer(II) et qu'ils s'y lient par leurs carbonyles. Mais, le plus

surprenant a été de découvrir une coordinence de sept pour ce complexe, dont le septième ligand est une molécule d'acétone coordonnée au fer par son carbonyle.

Dans le cas des complexes ayant été synthétisés avec du chlorure de fer(II), nous n'avons, hélas, obtenu aucune structure malgré de nombreux essais. Nous avons donc eu recours à diverses études spectroscopiques qui nous ont permis de découvrir une autre particularité pour ces complexes, à savoir la formation de l'espèce $\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4^{2-}$ qui se met en contre-ion et dont la proportion avec la partie cationique ($\text{LFe}^{\text{II}}/\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4^{2-}$, où L est le ligand) varie en fonction du nombre de groupements carboxyle. Pour preuve, la spectroscopie Mössbauer nous a montré que lorsque le ligand est pourvu de deux groupements carboxyle, la proportion $\text{LFe}^{\text{II}}/\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4^{2-}$ est de 2/1 avec un ion chlorure lié sur l'ion ferreux. Dans le cas où le ligand ne possède qu'un seul groupement carboxyle, la proportion $\text{LFe}^{\text{II}}/\text{Fe}^{\text{II}}\text{Cl}_4^{2-}$ est de 1/1, ce qui atteste de l'absence d'ion chlorure coordonné au centre métallique. Ce phénomène est encore difficile à expliquer ; néanmoins, nous pouvons supposer que le chlorure de fer(II) présent est plus acide, au sens de Lewis, que le fer coordonné par le ligand. Ainsi, existerait-il un équilibre entre les deux ions métalliques.

En outre, nous avons observé un effet de la nature du contre-ion sur la topologie des ligands. En effet, les complexes préparés avec du perchlorate de fer(II) ont leurs ligands en topologie *cis-α*, tandis que ceux synthétisés avec du chlorure de fer(II) sont pourvus majoritairement de ligands en topologie *cis-β*. Cet aspect met en lumière l'importance de la nature des contre-ions pour la géométrie de coordination de nos ligands. Cette dépendance a été décrite explicitement dans la littérature pour un autre complexe possédant un ligand N_2Py_2 et un motif propanediamine.

Ces complexes ont été introduits au sein de la poche de Nika avec plus ou moins de facilités, étant donné qu'ils n'ont pas la même affinité pour la protéine comme l'ont indiqué les mesures de K_d par la spectroscopie de fluorescence. Nous sommes tout de même parvenus à obtenir quatre hybrides qui diffèrent par la nature du complexe inorganique inséré. L'étude de ces hybrides en oxydation du thioanisole a mis en exergue que l'association d'un complexe inorganique et d'une protéine induit une amélioration de l'activité catalytique de ce dernier ainsi qu'une meilleure chimiosélectivité. Toutefois, les hybrides n'ont pas tous les mêmes efficacités s'agissant de la réactivité et de la chimiosélectivité. En outre, un test de stabilité effectué sur l'un des hybrides les plus performants, a montré que celui-ci est un catalyseur stable avec une activité ne diminuant pas dans des conditions oxydantes fortes, même si la chimiosélectivité baisse faiblement.

Nous avons obtenu seulement les structures cristallographiques de trois hybrides, dont deux uniquement bien affinées avec la valeur des distances. Toutes ces structures nous ont montré une topologie rarissime pour les ligands N₂Py₂, à savoir la topologie *trans*, celle-ci ayant été décrite auparavant pour deux ligands seulement. Il est clair à la vue des données cristallographiques que deux topologies sont accessibles, ce qui nous empêche de mieux préciser notre étude structure/réactivité. C'est pourquoi, à l'avenir, il faudra favoriser l'unicité de la structure à partir d'une synthèse des catalyseurs mieux maîtrisée ou par la mise au point de ligands plus contraints. Par exemple, nous pouvons envisager l'insertion de groupements méthyle sur les noyaux pyridine.

Cependant, il faut bien considérer que ces travaux sont dans leur première phase et que les systèmes que nous avons élaborés demandent à être améliorés. Si la chimiosélectivité est parfaite, les excès énantiomériques ne dépassent pas 11%, et ce, malgré de nombreuses tentatives, telles l'utilisation de thioéthers de plus grande taille ou l'expérience à plus basse température. Ce point d'achoppement peut être surmonté en menant une étude plus précise de l'approche du substrat au sein de l'hybride et/ou en apportant un encombrement plus important au niveau du complexe. La difficulté à obtenir une meilleure énantiosélectivité de la catalyse de sulfoxydation, nous a incité à collaborer avec Patricia Amara du LCCP afin d'effectuer du docking dans le but de trouver le motif structural minimum que doivent posséder les substrats pour avoir un gain en énantiosélectivité. Parmi un grand nombre de thioéthers découlant de cette étude, les molécules retenues sont très volumineuses avec pour motif structural commun un atome de soufre entouré d'un aryle et d'une fonction amide. Ces substrats seront testés prochainement et nous espérons obtenir de meilleurs excès énantiomériques. Dans la perspective de modification des ligands, une possibilité consistant à insérer des groupements carboxyle via des chaînes hydrocarbonées plus longues que celles utilisées lors de ces travaux – où un seul méthylène sépare la fonction acide carboxylique de l'amine du ligand –, devrait donner plus de possibilités de points d'ancrage au complexe dans la poche de Nika afin d'augmenter sa stabilité. Qui plus est, nous tiendrons compte de la seconde sphère de coordination, constituée d'acides aminés de la protéine, pour des modifications à ce niveau en ayant recours à la mutagenèse dirigée, elle-même combinée à des études structurales et de docking. Si ces modifications apportent une amélioration significative de l'énantiosélectivité, alors nous serons parvenus à élaborer une véritable oxygénase artificielle. Malgré tout, ce gain en excès énantiomérique se ferait au prix de thioéthers dotés d'une structure spécifique. Cependant, était-ce le but ? Celui-ci n'était-il pas plutôt de mettre au point des catalyseurs qui ne soient pas de simples copies des oxygénases

naturelles mais des systèmes affranchis de spécificité, dont fait montre les enzymes, tant du point de vue de la gamme de substrats qu'elles reconnaissent que du type de réaction qu'elles catalysent ? En effet, ces hybrides ne seraient peut-être capables de ne catalyser que la sulfoxydation de thioéthers.

C'est pourquoi, il nous faudra aussi mener des études mécanistiques plus approfondies pour comprendre plus finement l'activité de ces catalyseurs, en utilisant des méthodes calculatoires de simulations numériques, ou d'avoir recours à une étude de suivi réactionnel par piégeage d'intermédiaires à l'aide de la cristallographie, au même titre que les travaux ayant été réalisés sur le cytochrome P450, sur la naphthalène dioxygénase, et plus récemment, sur une extradiol dioxygénase, sans oublier des travaux de notre équipe en collaboration avec des membres du LCCP, qui ont mené une telle étude pour l'hydroxylation aromatique intramoléculaire du ligand d'un complexe incorporé au sein de la poche de NikA.

En parallèle, nous avons effectué des travaux préliminaires en vue d'élaborer des hybrides à partir de la protéine HSA selon la stratégie du "Cheval de Troie". Nous avons synthétisé des ligands N_2Py_2 au niveau desquels une des deux amines est substituée par un bras espaceur hydrocarboné portant un motif de reconnaissance pour HSA. La complexation de ces ligands a aussi été effectuée. Lors de leur test en catalyse d'oxydation d'alcènes contenant un cycle aromatique, nous avons constaté l'apparition d'un chromophore au niveau duquel des analyses spectroscopiques ont été réalisées pour nous révéler une activité d'hydroxylation aromatique assistée par l'acide acétique, démontrant l'existence d'un oxydant lié à la présence de cet acide.

En résumé, malgré les difficultés rencontrées, nous avons mis au point des hybrides dotés de propriétés intéressantes qui leur sont propres, attestant d'un phénomène de synergie entre le complexe de fer et la protéine, et ainsi montré que de tels systèmes peuvent fonctionner moyennant quelques modifications. Il faut espérer que ces travaux, aussi difficiles qu'ils soient, mèneront à de véritables nouveaux catalyseurs réunissant les deux mondes que sont la chimie et la biologie permettant, par la même occasion, de tisser de nouveaux liens entre les chercheurs de différentes disciplines. Je pense que l'avenir de la recherche repose sur ces liens et que la spécialisation dans une discipline donnée sera désuète.

Partie expérimentale

A. Synthèse des ligands et des complexes

Tous les produits chimiques et les solvants proviennent de Sigma-Aldrich et d'Acros Organics. Ils ont été utilisés sans purification sauf cas mentionnés.

Les **spectres infrarouges** ont été réalisés sur un appareil Perkin Elmer Spectrum 100. Les solides ont été mélangés à du KBr et mis en pastilles sous pression.

Les **spectres UV-visibles** ont été effectués sur un appareil Shimadzu UV-1800 dans des cuves de 1 cm de trajet optique.

Les **spectres RMN (^1H , ^{13}C et paramagnétique)** ont été enregistrés à température ambiante sur un appareil Brüker Avance 300 MHz. Les solvants deutérés utilisés sont indiqués dans chaque cas. Les déplacements chimiques δ sont exprimés en partie par million (ppm) et les constantes de couplage J en Hz. Les multiplicités sont désignées par les abréviations suivantes : s (singulet), sl (singulet large), d (doublet), dd (double doublet), qd (quadruple doublet), t (triplet), q (quadruplet) et m (multiplet, pour une multiplicité > 4).

Les **spectres de masse** ont été effectués au SCIB/INAC-CEA-Grenoble sur un appareil Thermoquest Finnigan LCQ à trappe d'ions utilisant la technique d'ionisation par électrospray (ESI-MS) en modes positif et négatif.

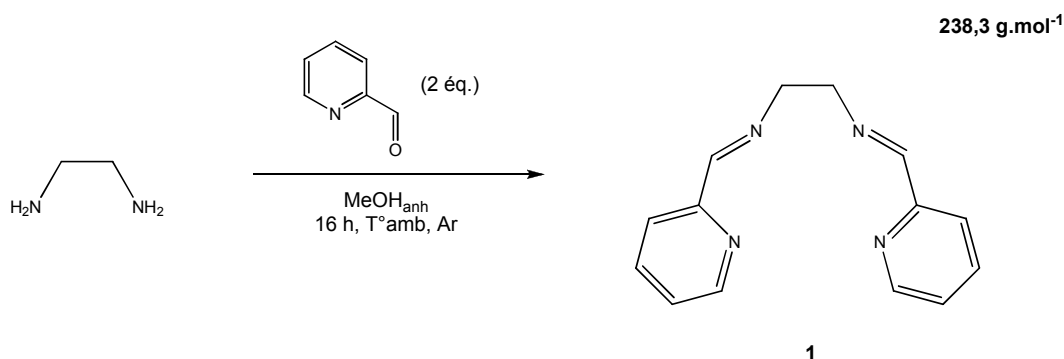
Les données structurales des complexes inorganiques ont été obtenues par **diffraction aux rayons X** sur un monocristal à 150 K utilisant un diffractomètre Oxford-diffraction XCalibur S.

I- Synthèse des ligands

I-1. Les ligands possédant un ou deux groupements carboxyle pour la reconnaissance avec NikA

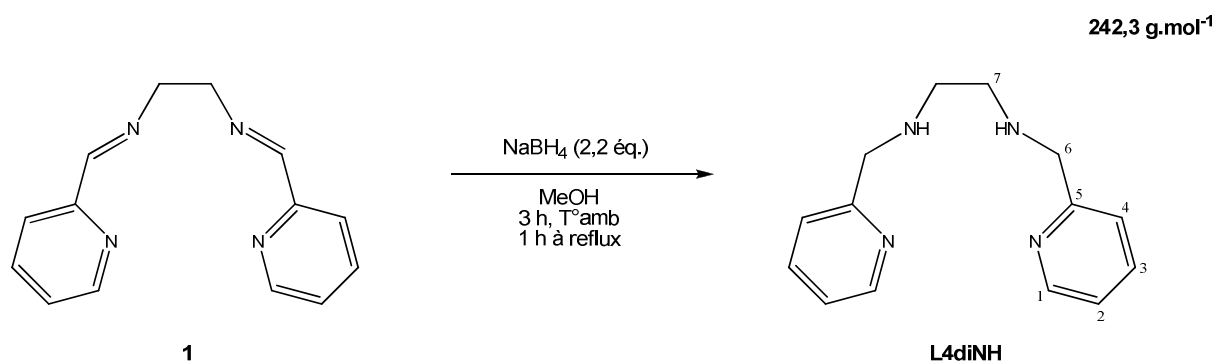
➤ Le ligand $L4MeC_2O_2H^I$

- Composé 1



Dans 50 mL de méthanol anhydre, sous argon, sont dilués 9,54 mL de pyridine-2-carboxyaldéhyde (10,69 g ; 99,8 mmol). A cette solution, sont ensuite ajoutés goutte à goutte 3,38 mL d'éthylène-1,2-diamine (3 g ; 49,9 mmol), et ce à 0°C. Ceci fait, le milieu réactionnel est agité pendant 16 heures, sous argon, à température ambiante.

- $L4diNH$



Du tétraborohydrure de sodium (4,15 g ; 109,8 mmol) est ajouté lentement, à 0°C, au milieu réactionnel avant que celui-ci ne soit agité pendant 3 heures à température ambiante et 1 heure à reflux. De l'eau est ensuite ajoutée, puis une solution saturée en $NaHCO_3$. Ceci fait, la phase organique est lavée avec une solution saturée en $NaCl$, séchée sur Na_2SO_4 , filtrée sur

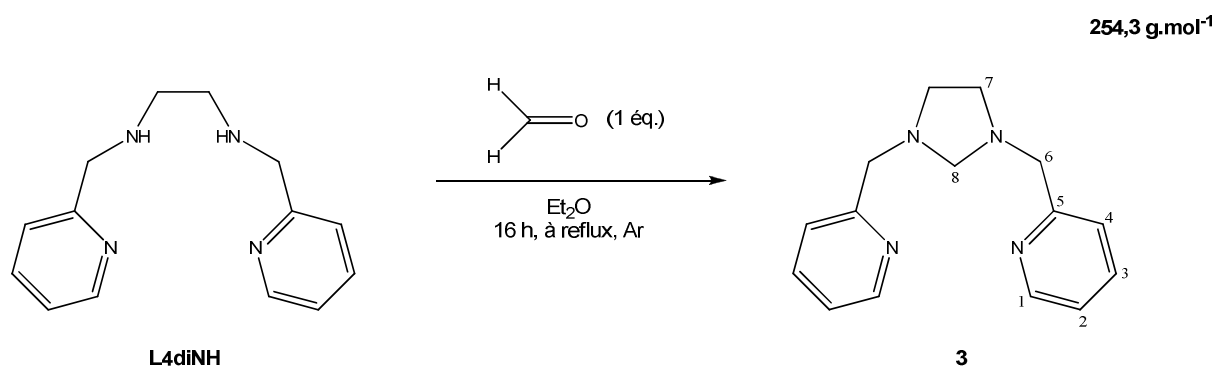
verre fritté et évaporée sous pression réduite. Le ligand **L4diNH** est obtenu sous forme d'une huile jaune (10,8 g ; 44,9 mmol ; 90%).

CCM (Silice) : $R_f = 0,28$ ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (5%)/ NEt_3 (1%)).

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) : δ (ppm) = 8,34 (d, 2H, H1, $J = 4,2$ Hz) ; 7,43 (t, 2H, H3, $J = 7,5$ Hz) ; 7,13 (d, 2H, H4, $J = 7,5$ Hz) ; 6,94 (t, 2H, H2, $J = 5,4$ Hz) ; 3,72 (s, 4H, H6) ; 2,62 (s, 4H, H7).

RMN ^{13}C (300 MHz, CDCl_3) : δ (ppm) = 159,7 (C5) ; 149,0 (C1) ; 136,3 (C3) ; 122,1 et 121,7 (C2 et C4) ; 55,0 (C6) ; 48,9 (C7).

• *Composé 3*



Le ligand **L4diNH** (10,8 g ; 44,9 mmol) et du paraformaldéhyde (1,35 g ; 44,9 mmol) sont dissous dans 50 mL d'éther, sous argon, auquel est ajoutée une spatule de billes de tamis moléculaire à 4 Å. Après agitation du milieu réactionnel à reflux pendant 16 heures, celui-ci est filtré sur verre fritté, puis l'éther est évaporé sous pression réduite pour aboutir à une huile jaune clair (10,2 g ; 40 mmol ; 89%).

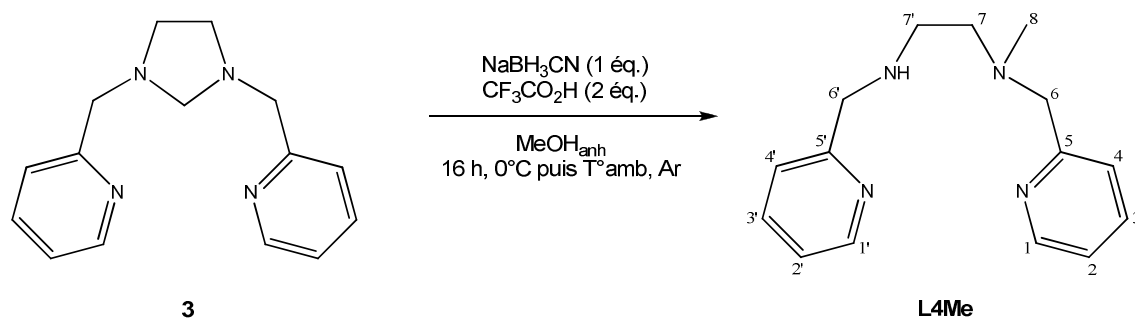
CCM (Silice) : $R_f = 0,38$ ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (5%)/ NEt_3 (1%)).

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) : δ (ppm) = 8,48 (d, 2H, H1, $J = 3,9$ Hz) ; 7,57 (t, 2H, H3, $J = 7,8$ Hz) ; 7,42 (d, 2H, H4, $J = 7,8$ Hz) ; 7,07 (t, 2H, H2, $J = 5,7$ Hz) ; 3,86 (s, 4H, H7) ; 3,55 (s, 2H, H8) ; 2,88 (s, 4H, H7).

RMN ^{13}C (300 MHz, CDCl_3) : δ (ppm) = 161,9 (C5) ; 151,6 (C1) ; 139,1 (C3) ; 125,3 et 124,6 (C2 et C4) ; 79,4 (C8) ; 63,7 (C6) ; 55,2 (C7).

• *L4Me*

256,3 g/mol



Le composé **3** (10,2 g ; 40 mmol) est dissous dans 300 mL de méthanol anhydre. Ensuite, du cyanoborohydrure de sodium (2,52 g ; 40 mmol) est ajouté sous forme solide petit à petit en maintenant une température inférieure à 5°C. Ceci fait, de l'acide trifluoroacétique (9,12 g ; 80 mmol) sont ajoutés. Après 16 heures d'agitation du milieu réactionnel, à température ambiante et sous protection d'une garde en CaCl_2 , 90 mL d'une solution de soude à 15% sont ajoutés, et le milieu réactionnel est agité pendant 6 heures supplémentaires à température ambiante. Après l'extraction de la solution avec du dichlorométhane (3 fois), les phases organiques sont rassemblées, séchées sur Na_2SO_4 , filtrées et évaporées sous pression réduite. Après purification sur colonne de gel d'alumine neutre avec comme éluant : $\text{AcOEt}/\text{NEt}_3$ 0,2%, le ligand **L4Me** est obtenu sous la forme d'une huile jaune (9,74 g ; 38 mmol ; 95%).

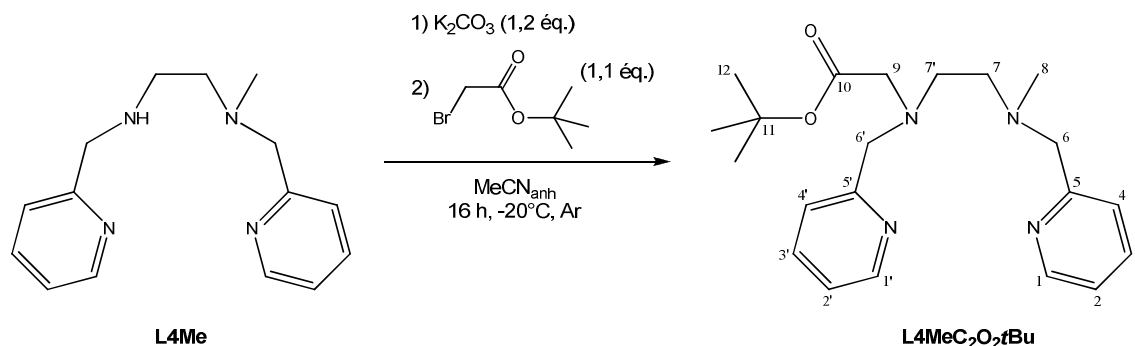
CCM (Alumine basique) : $R_f = 0,40$ ($\text{AcOEt}/\text{NEt}_3$ (1%)).

RMN ^{13}C (300 MHz, CDCl_3) : δ (ppm) = 159,5 (C5 ou C5') ; 158,9 (C5 ou C5') ; 148,5 (C1 et C1') ; 135,8 (C3 et C3') ; 122,5 et 121,5 (C2, C2', C4 et C4') ; 63,4 (C6) ; 56,6 (C6') ; 54,6 (C7) ; 46,2 (C8) ; 42,1 (C7').

- $L4MeC_2O_2H$

- Première méthode

370,3 g.mol⁻¹

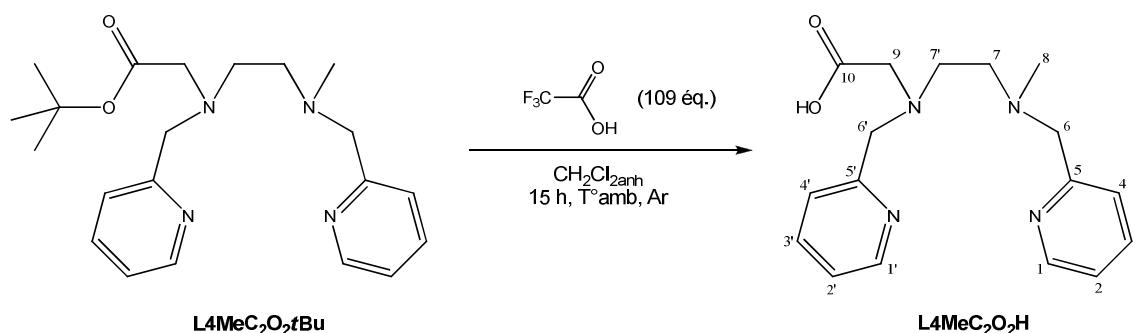


Du **L4Me** (500 mg ; 1,95 mmol) et du K_2CO_3 (323 mg ; 2,34 mmol) sont dissous dans 10 mL d'acétonitrile anhydre. Ensuite, 317 μ L de *tert*-butylbromoacétate (418 mg ; 2,15 mmol) dilués dans 10 mL d'acétonitrile anhydre, sont ajoutés goutte à goutte avec une ampoule à brome. Après 16 heures d'agitation, sous argon, à $-20^\circ C$, le milieu réactionnel est passé d'une couleur jaune et d'un aspect limpide à une couleur orangée et un aspect opaque, avec la présence d'un solide blanc correspondant au KBr formé et au restant de K_2CO_3 . Le milieu réactionnel est ainsi filtré, puis dilué avec du dichlorométhane et de l'eau. Après l'extraction avec du dichlorométhane (3 fois), les phases organiques sont rassemblées, séchées sur Na_2SO_4 , filtrées et évaporées sous pression réduite pour conduire à une huile rouge brique de 675 mg. Le produit est purifié sur colonne de gel d'alumine neutre avec comme éluant : AcOEt/pentane (1/1). Le ligand **L4MeC₂O₂tBu** est obtenu sous la forme d'une huile rouge (313 mg ; 0,85 mmol ; 44%).

CCM (Alumine basique) : $R_f = 0,52$ (AcOEt/pentane 1/1).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) = 8,51 (d, 2H, H1 et H1', $J = 4,8$ Hz) ; 7,62 (m, 2H, H3 et H3') ; 7,46 (dd, 2H, H4 et H4', $J_1 = 7,8$ Hz et $J_2 = 33$ Hz) ; 7,13 (m, 2H, H2 et H2') ; 3,97 (s, 2H, H6') ; 3,66 (s, 2H, H9) ; 3,38 (s, 2H, H6) ; 2,90 (t, 2H, H7', $J = 6,9$ Hz) ; 2,62 (t, 2H, H7, $J = 6,9$ Hz) ; 2,24 (s, 3H, H8) ; 1,46 (s, 9H, H12).

RMN ¹³C (300 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) = 170,6 (C10) ; 159,7 et 159,3 (C5 et C5') ; 148,8 (C1 et C1') ; 136,2 (C3 et C3') ; 122,8 et 121,8 (C2, C2', C4 et C4') ; 80,6 (C11) ; 64,0 (C6) ; 60,5 (C6') ; 56,0 (C7 et C9) ; 51,6 (C7') ; 42,6 (C8) ; 28,1 (C12).



A une solution de **L4MeC₂O₂tBu** (218 mg ; 0,59 mmol) dissous dans 1 mL de dichlorométhane anhydre, sont ajoutés goutte à goutte, à 0°C, 5 mL d'acide trifluoroacétique (7,33 g ; 64,31 mmol). Le milieu réactionnel est ensuite agité à cette même température, sous argon, pendant 30 minutes, puis à température ambiante 15 heures durant, sous argon, à température ambiante. Le milieu réactionnel, marron clair et opaque, est concentré sous pression réduite jusqu'au 4/5^{ème} environ du volume, puis le résidu huileux qui en résulte est versé de façon stillatoire dans 40 mL d'éther anhydre sous agitation, ce qui provoque la formation d'un précipité marron ; celui-ci est séché sous pression réduite pendant 15 heures pour donner le ligand **L4MeC₂O₂H** sous forme d'une fine poudre marron clair (163 mg ; 0,52 mmol ; 88%).

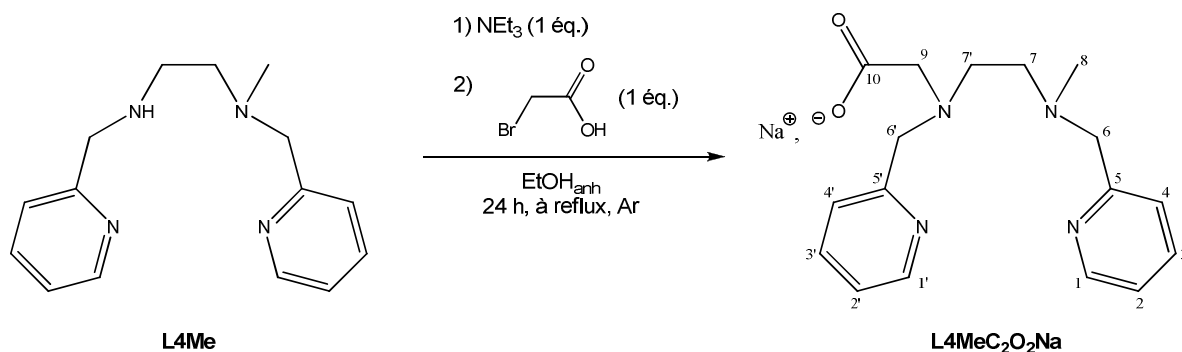
RMN ¹H (300 MHz, MeOD) : δ (ppm) = 8,58 (d, 2H, H1 et H1', $J = 15$ Hz) ; 7,91 (m, 2H, H3 et H3') ; 7,51 (m, 4H, H2, H2', H4 et H4') ; 4,92 (s, 2H, H6') ; 4,58 (s, 2H, H9) ; 4,06 (s, 2H, H6) ; 3,50 (m, 2H, H7') ; 3,32 (m, 2H, H7) ; 2,96 (s, 3H, H8)

RMN ¹³C (300 MHz, MeOD) : δ (ppm) = 172,8 (C10) ; 157,8 (C5 et C5') ; 149,5 et 147,9 (C1 et C1') ; 138,7 et 137,7 (C3 et C3') ; 125,0 et 124,4 (C2, C2', C4 et C4') ; 65,5 (C6) ; 58,8 (C6') ; 57,6 (C9) ; 54,2 (C7) ; 49,3 (C7') ; 40,1 (C8)

SM (ESI, MeOH) : $m/z = 315,3$ (100, $[\text{M}+\text{H}]^+$)

○ *Seconde méthode*

336,3 g.mol⁻¹



A une solution de **L4Me** (500 mg ; 1,95 mmol) et de triéthylamine (202,4 mg ; 2 mmol ; 278 μ L) dans 16 mL d'éthanol anhydre, est ajouté de l'acide bromoacétique (271 mg ; 1,95 mmol). Après 24 heures d'agitation, à reflux et sous argon, le solvant est évaporé sous pression réduite pour donner une huile qui est ensuite dissoute dans 1 mL d'eau ; puis, le pH est ajusté vers 14 via une solution de NaOH 3N. Ceci fait, la solution est extraite 3 fois avec du dichlorométhane avant que la phase aqueuse ne soit évaporée sous pression réduite pour conduire à une huile marron de 783 mg.

RMN ¹H (300 MHz, MeOD) : δ (ppm) = 8,57 (t, 2H, H1 et H1', J = 6 Hz) ; 7,78 (m, 2H, H3 et H3') ; 7,30 (m, 4H, H2, H2', H4 et H4') ; 3,67 (s, 2H, H9) ; 3,62 (s, 2H, H6') ; 2,95 (s, 2H, H6) ; 2,49 (m, 2H, H7') ; 2,34 (m, 2H, H7) ; 2,03 (s, 3H, H8).

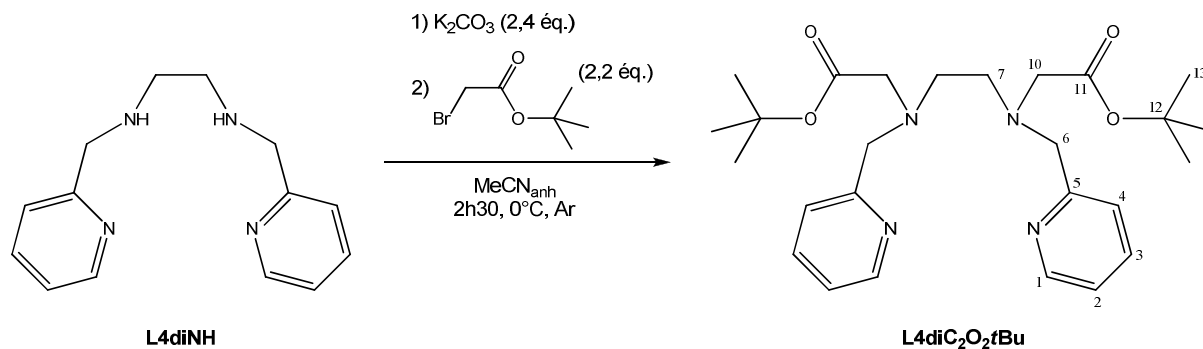
RMN ¹³C (300 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) = 166,9 (C10) ; 156,8 (C5 et C5') ; 149,3 (C1 et C1') ; 136,7 (C3 et C3') ; 122,8 (C2 et C4') ; 122,3 (C2' et C4) ; 65,8 (C6) ; 63,3 (C6') ; 57,4 (C9) ; 51,6 (C7) ; 49,7 (C7') ; 46,9 (C8).

SM (ESI, MeOH) : m/z = 315,3 (100, [M+H]⁺) ; 271,3 (18, [M+H-CO₂]⁺).

➤ **Le ligand $L4diC_2O_2H$**

• **$L4diC_2O_2tBu$**

470,3 g.mol⁻¹



Le ligand **L4diNH** (2 g, 8,25 mmol) est dissous dans 40 mL d'acétonitrile anhydre, puis du K_2CO_3 (2,73 g ; 19,8 mmol) est ajouté. Ensuite, 2,69 mL de *tert*-butylbromoacétate (3,55 g, 18,2 mmol), dilués dans 40 mL d'acétonitrile anhydre, sont ensuite additionnés goutte à goutte. Ceci fait, le mélange réactionnel est agité pendant 2 h 30 min. sous argon, à 0°C. Le milieu réactionnel est ensuite extrait 3 fois avec du dichlorométhane et lavé 2 fois avec une solution saturée en NaCl. Les phases organiques regroupées sont par la suite séchées sur Na_2SO_4 , filtrées et le solvant évaporé sous pression réduite pour conduire à une huile jaune de 4,49 g.

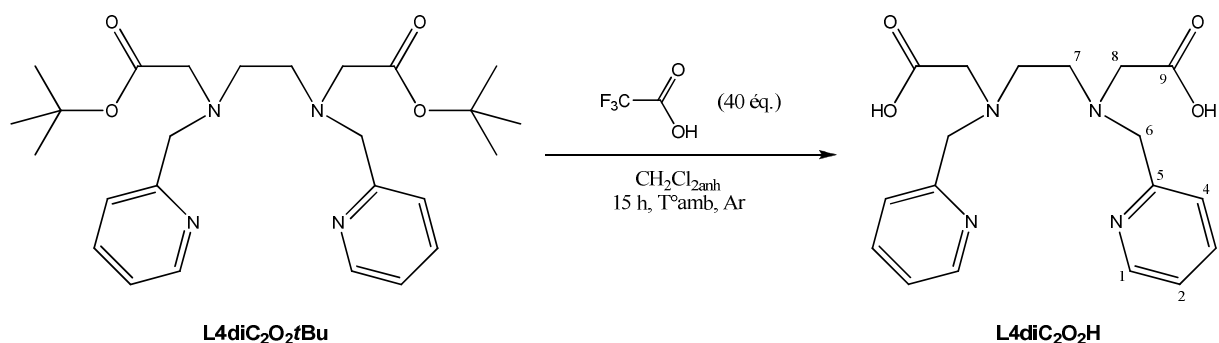
Le produit est purifié sur colonne de gel d'alumine neutre avec comme éluant l'acétate d'éthyle. Le ligand **L4diC₂O₂tBu** est obtenu sous la forme d'une huile jaune pâle (3,15 g ; 6,70 mmol ; 81%).

CCM (Alumine basique) : $R_f = 0,79$ (AcOEt).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) = 8,51 (d, 2H, H1, $J = 4,5$ Hz) ; 7,61 (m, 2H, H3) ; 7,50 (d, 2H, H4, $J = 7,8$ Hz) ; 7,14 (t, 2H, H2, $J = 6$ Hz) ; 3,93 (s, 4H, H6) ; 3,33 (s, 4H, H10) ; 2,84 (s, 4H, H7) ; 1,45 (s, 18H, H13).

• *L4diC₂O₂H*

358,3 g.mol⁻¹



19 mL d'acide trifluoroacétique (30,5 g ; 268 mmol) sont additionnés goutte à goutte, à 0°C, à une solution de **L4diC₂O₂fBu** (3,15 g ; 6,70 mmol) dans 10 mL de dichlorométhane anhydre. Le milieu réactionnel est agité pendant 30 minutes à cette même température, puis 15 heures à température ambiante. Ensuite, le milieu réactionnel est concentré sous pression réduite jusqu'au 4/5^{ème} de son volume environ, avant d'être ajouté goutte à goutte à 40 mL d'éther anhydre sous agitation, induisant la formation d'un précipité jaune pâle. Ceci fait, le surnageant est enlevé avec une pipette Pasteur et le précipité est de nouveau lavé avec de l'éther avant d'être séché sous vide pendant 16 heures. Le ligand **L4diC₂O₂H** est obtenu sous forme d'une pâte jaune pâle avec un rendement voisin de 100%.

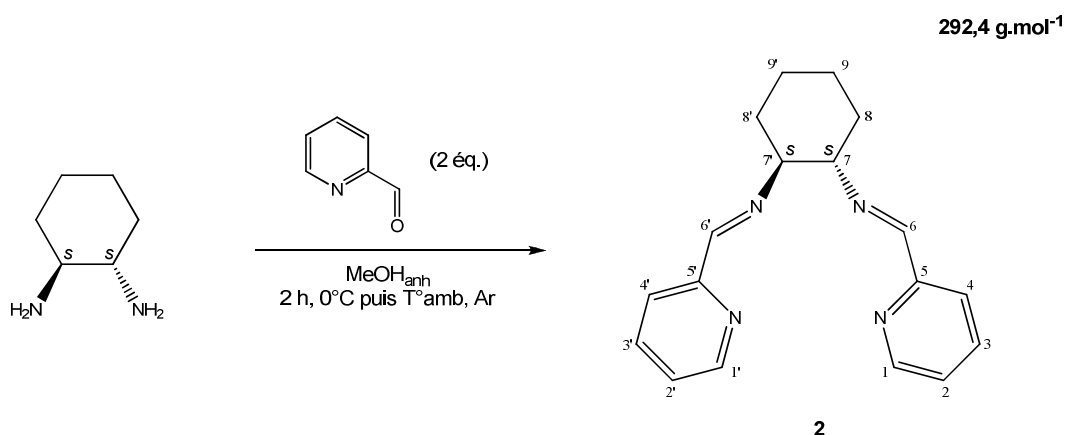
RMN ¹H (300 MHz, Acétone-*d*₆) : δ (ppm) = 9,05 (sl, 2H, OH) ; 8,74 (d, 2H, H1, *J* = 4,8 Hz) ; 8,19 (t, 2H, H3, *J* = 7,8 Hz) ; 7,83 (d, 2H, H4, *J* = 7,8 Hz) ; 7,68 (t, 2H, H2, *J* = 6 Hz) ; 4,62 (s, 4H, H6) ; 3,97 (s, 4H, H10) ; 3,59 (s, 4H, H7).

RMN ¹³C (300 MHz, Acétone-*d*₆) : δ (ppm) = 172,1 (C9) ; 152,3 (C5) ; 145,1 (C1) ; 142,8 (C3) ; 126,1 et 125,3 (C2 et C4) ; 56,1 (C6 ou C8) ; 54,2 (C6 ou C8) ; 51,1 (C7).

SM (ESI, MeOH) : *m/z* = 359,5 (62, [M+H]⁺) ; 313,5 (100, [M-H₂CO₂]⁺).

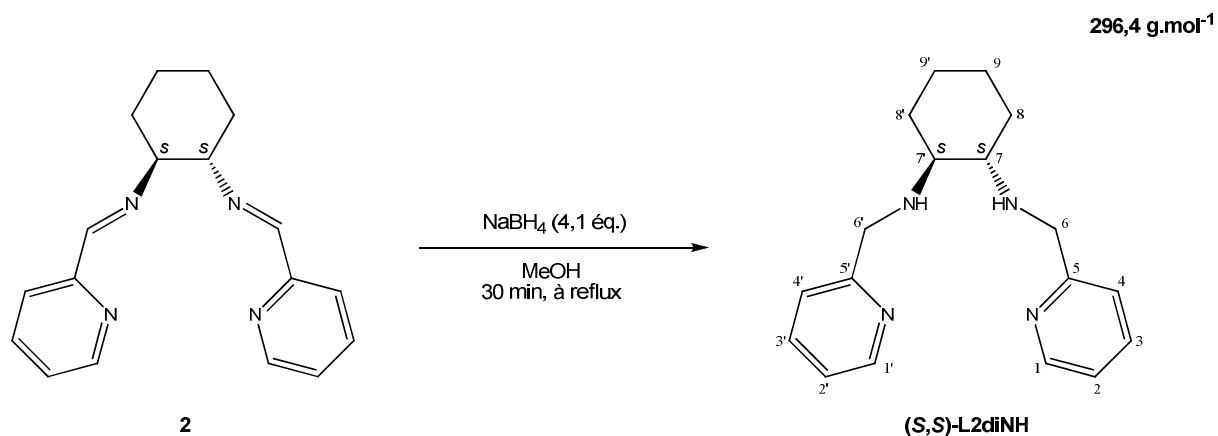
➤ *Le ligand (S,S)-L2MeC₂O₂H*

• *Composé 2*



1,68 mL de pyridine-2-acétaldéhyde (1,88 g ; 17,5 mmol) sont dilués dans 15 mL de méthanol anhydre. Ensuite, 1,05 mL de (1*S*,2*S*)-1,2-diaminocyclohexane (1 g ; 8,76 mmol), dilués dans 15 mL de méthanol anhydre, sont ajoutés goutte à goutte pendant 90 minutes à l'aide d'une ampoule à brome isobare, donnant une solution rouge brique qui, après addition à 0°C, est agitée 2 heures durant, sous argon, à température ambiante. Du Na₂SO₄ est ensuite ajouté, et le milieu réactionnel est agité 1 heure supplémentaire, avant qu'il ne soit filtré, et utilisé tel quel, sans autre traitement, pour la réaction suivante.

• *(S,S)-L2diNH*



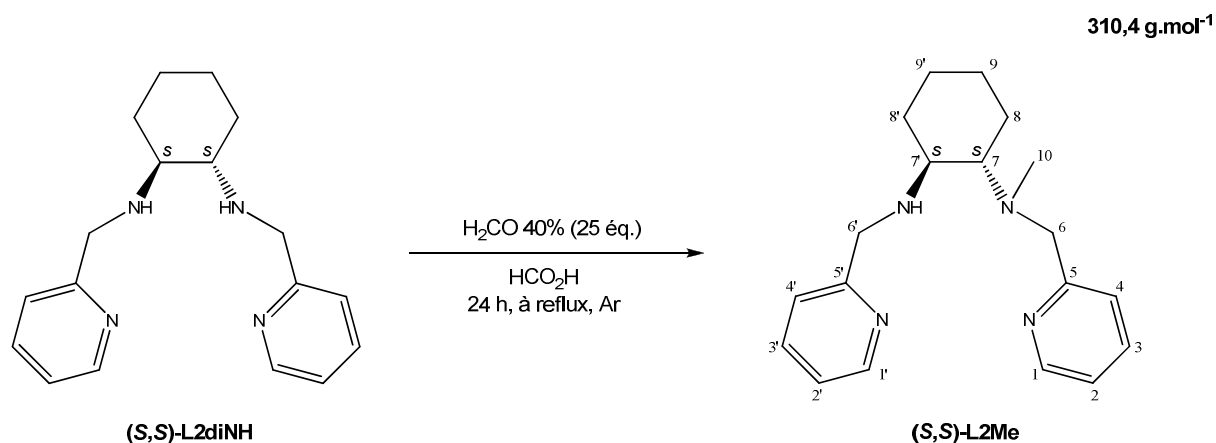
Du tétraborohydrure de sodium (1,36 g ; 35,9 mmol) est ajouté lentement à la solution précédente en veillant à maintenir une température voisine de 5°C. La solution devient jaune et opaque au bout de 5 minutes environ. Le milieu réactionnel est ensuite agité à reflux pendant 30 minutes. Ceci fait, 10 mL d'eau sont ajoutés avant l'extraction avec du

dichlorométhane (3 fois). Les phases organiques sont rassemblées et lavées une fois avec une solution saturée en NaHCO_3 , puis une fois avec une solution saturée en NaCl . Ensuite, les phases organiques sont séchées sur Na_2SO_4 , filtrées, et évaporées sous pression réduite. Le ligand **(S,S)-L2diNH** est obtenu sous forme d'une huile rouge (2,21 g ; 7,46 mmol ; 85%).

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) : δ (ppm) = 8,34 (d, 2H, H1 et H1', $J = 4,8$ Hz) ; 7,44 (m, 2H, H3 et H3') ; 7,22 (d, 2H, H4 et H4', $J = 7,8$) ; 6,95 (m, 2H, H3 et H3') ; 3,78 (dd, 4H, H6 et H6', $J = 57$ Hz) ; 2,98 (sl, 2H, $2 \times \text{NH}$) ; 2,18 (m, 2H, H7 et H7') ; 1,97 (d, 2H, H8_{ax} et H8'_{ax}, $J = 12,9$ Hz) ; 1,54 (d, 2H, H8_{eq} et H8'_{eq}, $J = 7,8$ Hz) ; 0,99 (m, 4H, H9 et H9').

RMN ^{13}C (300 MHz, CDCl_3) : δ (ppm) = 160,2 (C5 et C5') ; 148,9 (C1 et C1') ; 136,3 (C3 et C3') ; 122,2 et 121,7 (C2, C2', C4 et C4') ; 61,1 (C7 et C7') ; 52,1 (C6 et C6'), 31,3 (C8 et C8' ou C9 et C9') ; 24,8 (C8 et C8' ou C9 et C9').

- **(S,S)-L2Me**



Le ligand **(S,S)-L2diNH** (2,21 g ; 7,46 mmol) est dilué dans 69 mL d'acide formique avant l'ajout de 5 mL de formaldéhyde (5,60 g, 186,5 mmol). Après 24 heures d'agitation à reflux, sous argon, 10 mL d'eau sont ajoutés, puis 30 mL d'une solution de soude 5N à 0°C. La solution est ensuite extraite 3 fois avec du dichlorométhane, et les phases organiques obtenues sont séchées sur Na_2SO_4 , filtrées, puis évaporées sous pression réduite pour donner une huile marron clair de 2,3 g. Le produit est purifié sur colonne de gel de silice avec comme éluant : dichlorométhane/méthanol (5%)/triéthylamine (1%). Le ligand **(S,S)-L2Me** est obtenu sous forme d'une huile orangée (2 g ; 6,44 mmol ; 86%).

CCM (Silice) : $R_f = 0,36$ ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (10%)/ NEt_3 (1%)).

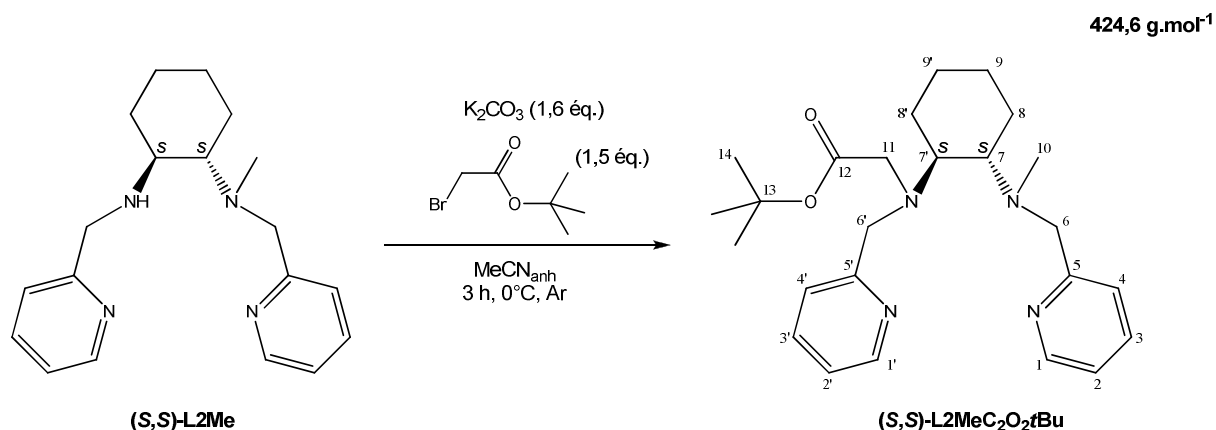
RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) : δ (ppm) = 8,35 (d, 2H, H1, $J = 2,4$ Hz) ; 7,50 (m, 3H, H3, H3' et H4 ou H4') ; 7,17 (d, 1H, H4 ou H4') ; 7,00 (m, 2H, H2 et H2') ; 3,69 (qd, 4H, H6 et H6') ; 2,38 (m, 2H, H7 et H7') ; 2,01 (s, 4H, H10) ; 1,71 (m, H8 et H8') ; 1,08 (m, 4H, H9 et H9').

RMN ^{13}C (300 MHz, CDCl_3) : δ (ppm) = 160,0 (C5 et C5') ; 148,8 (C1 et C1') ; 136,4 (C3 et C3') ; 122,5 et 121,8 (C2, C2', C4 et C4') ; 22,2 (C10).

SM (ESI, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$) : $m/z = 311,6$ (100, $[\text{M}+\text{H}]^+$).

➤ **Le ligand (*S,S*)-L2MeC₂O₂H**

- (*S,S*)-L2MeC₂O₂*t*Bu



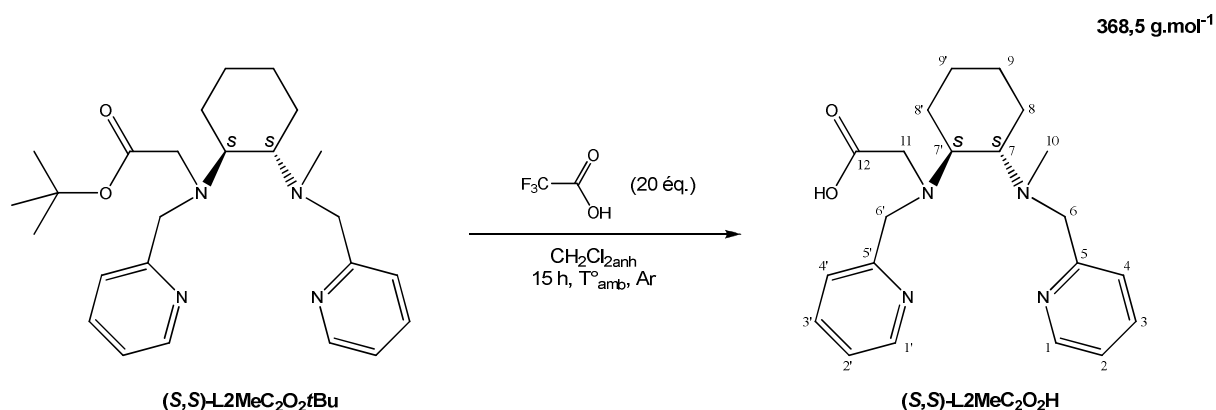
713 μL de *tert*-butylbromoacétate (942 mg ; 4,83 mmol), dilués dans 20 mL d'acétonitrile anhydre, sont additionnés goutte à goutte à un mélange de (*S,S*)-L2Me (1 g ; 3,22 mmol) et de K_2CO_3 (711 mg ; 5,15 mmol) dans 20 mL d'acétonitrile anhydre. Le milieu réactionnel est agité pendant 3 heures à 0°C, sous argon. Ensuite, 20 mL d'eau sont ajoutés et la solution extraite 3 fois avec du dichlorométhane. Après lavage avec une solution saturée en NaCl, les phases organiques sont regroupées, séchées sur Na_2SO_4 , filtrées, puis évaporées sous pression réduite pour conduire à une huile rouge orangée de 1,64 g. Le produit est purifié sur colonne de gel d'alumine neutre avec comme éluant : AcOEt/pentane/triéthylamine (49/49/1) pour conduire à une huile orangée (732 mg ; 1,72 mmol ; 53%).

CCM (Alumine basique) : $R_f = 0,54$ (AcOEt/pentane/ NEt_3 49/49/1).

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) : δ (ppm) = 8,44 (t, 2H, H1 et H1', $J = 6,3$ Hz) ; 7,57 (m, 4H, H3, H3', H4 et H4') ; 7,08 (m, 2H, H2 et H2') ; 3,99 (dd, 2H, H6', $J_1 = 15$ Hz et $J_2 = 60,8$ Hz) ; 3,72 (dd, 2H, H6, $J_1 = 14,4$ Hz et $J_2 = 30,3$ Hz) ; 3,38 (dd, 2H, H11, $J_1 = 16,5$ Hz et $J_2 = 44,7$ Hz) ; 2,63 (m, 2H, H7 et H7') ; 2,07 (s, 3H, H10) ; 1,98 (m, 2H, H8 ou H8') ; 1,71 (t, 2H, H8 ou H8', $J = 2,4$ Hz) ; 1,39 (s, 9H, H14) ; 1,16 (m, 4H, H9 et H9').

RMN ^{13}C (300 MHz, CDCl_3) : δ (ppm) = 171,9 (C12) ; 161,4 (C5 et C5') ; 148,5 (C1 et C1') ; 136,3 (C3 et C3') ; 123,2 (C2 et C2') ; 121,7 (C4 et C4') ; 80,4 (C13) ; 36,4 (C10) ; 28,1 (C14).

• *(S,S)*-L2MeC₂O₂H



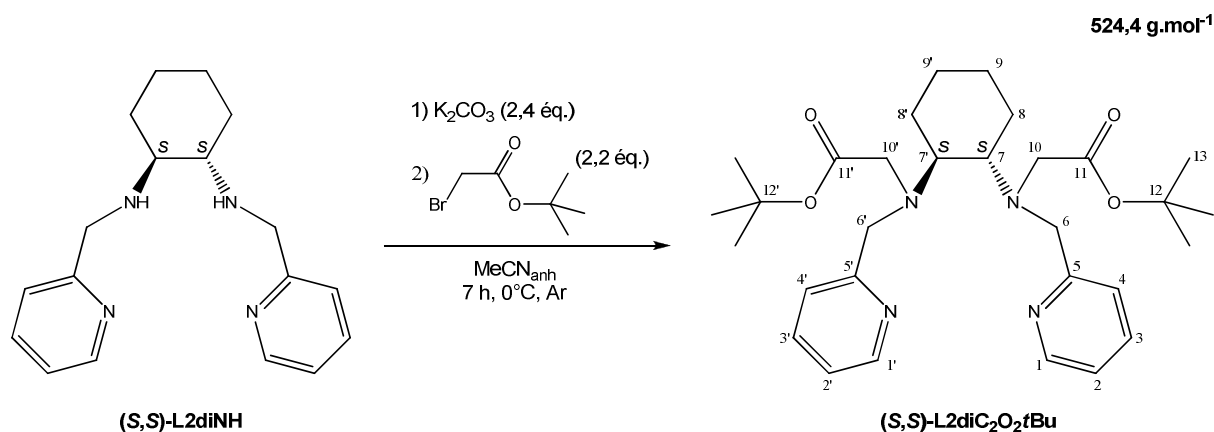
Après la dissolution du ligand *(S,S)*-L2MeC₂O₂tBu (732 mg ; 1,72 mmol) dans 3 mL de dichlorométhane anhydre, 2,5 mL d'acide trifluoroacétique (3,92 g ; 34,4 mmol) sont additionnés goutte à goutte à 0°C. Ceci fait, le milieu réactionnel est agité à cette même température pendant 30 minutes, puis à température ambiante 15 heures durant, sous argon. Ensuite, le milieu réactionnel est concentré sous pression réduite jusqu'au 4/5^{ème} environ du volume, avant d'être ajouté goutte à goutte à 40 mL d'éther anhydre. Au lieu de fournir une poudre, le produit tend plutôt à se mettre sous la forme d'une huile. Ainsi, le surnageant d'éther est enlevé et le résidu huileux est relavé avec de l'éther. Après séchage du produit sous pression réduite, un résidu pâteux orangé est obtenu (577 mg ; 1,57 mmol ; 91%).

RMN ^1H (300 MHz, Acétone- d_6) : δ (ppm) = 8,65 (sl, 2H, H1 et H1') ; 7,92 (sl, 2H, H3 et H3') ; 7,61 (sl, 2H, H4 et H4') ; 7,46 (sl, 2H, H2 et H2') ; 4,89 (sl, 2H, H6') ; 4,37 (sl, 2H,

H6) ; 3,53 (m, 2H, H11) ; 3,01 (sl, 2H, H7 et H7') ; 2,42 (m, 2H, H8 ou H8') ; 1,90 (m, 2H, H8 ou H8') ; 1,38 (m, 4H, H9 et H9').

➤ **Le ligand (S,S)-L2diC₂O₂H**

- (S,S)-L2diC₂O₂tBu



Du (S,S)-L2diNH (500 mg ; 1,69 mmol) et du K₂CO₃ (559 mg ; 4,06 mmol) sont dissous dans 10 mL d'acétonitrile anhydre. Ensuite, 548 µL de *tert*-butylbromoacétate (724 mg ; 3,72 mmol) dans 10 mL d'acétonitrile anhydre sont additionnés goutte à goutte, à 0°C, avec une ampoule à brome. Après 7 heures d'agitation, sous argon, à 0°C, la solution est filtrée pour enlever le K₂CO₃ restant et du KBr formé au cours de la réaction. Après extraction au dichlorométhane (3 fois) et lavage avec une solution saturée en NaCl (2 fois), les phases organiques réunies sont séchées sur Na₂SO₄, filtrées et évaporées sous pression réduite pour conduire à huile rouge de 860 mg. Le produit est purifié sur colonne de gel d'alumine neutre avec comme éluant AcOEt/pentane (1/1) pour aboutir à une huile jaune (364 mg ; 0,69 mmol ; 41%).

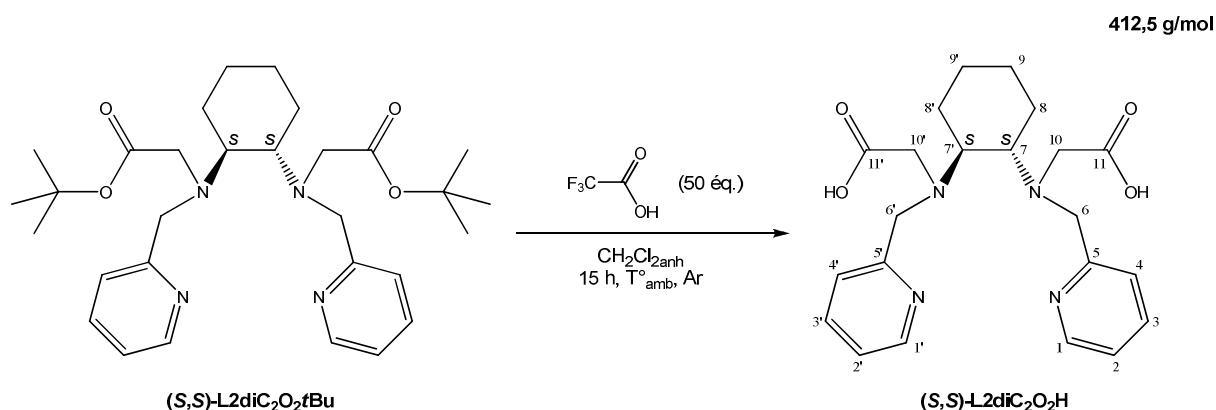
CCM (Alumine basique) : $R_f = 0,78$ (AcOEt/pentane 1/1).

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) : δ (ppm) = 8,38 (d, 2H, H1 et H1') ; 7,70 (d, 2H, H3 et H3') ; 7,44 (m, 2H, H4 et H4') ; 7,03 (t, 2H, H2 et H2', $J = 6$ Hz) ; 3,75 (q, 4H, H6 et H6', $J = 66$) ; 3,26 (q, 4H, H10 et H10', $J = 45$) ; 2,57 (sl, 2H, H7 et H7') ; 2,05 (sl, 2H, H8_{ax}) ; 1,65 (sl, 2H, H8_{eq}) ; 1,39 (m, 18H, H13) ; 1,03 (m, 4H, H9 et H9').

RMN ^{13}C (300 MHz, CDCl_3) : δ (ppm) = 171,5 (C11 et C11') ; 160,7 (C5 et C5') ; 148,3 (C1 et C1') ; 136,1 (C3 et C3') ; 124,0 (C2 et C2') ; 121,7 (C4 et C4') ; 80,2 (C12 et C12') ; 61,1 (C7 et C7') ; 56,3 (C10 et C10') ; 52,5 (C6 et C6') ; 28,1 (C13) ; 26,5 (C8 et C8' ou C9 et C9') ; 25,8 (C8 et C8' ou C9 et C9').

SM (ESI, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$) : $m/z = 525,4$ (100, $[\text{M}+\text{H}]^+$).

• *(S,S)*-L2diC₂O₂H



Le ligand **(S,S)-L2diC₂O₂tBu** (364 mg ; 0,69 mmol) est dissous dans 4 mL de dichlorom\u00e9thane anhydre. Ensuite, 2,5 mL d'acide trifluoroac\u00e9tique (3,93 g ; 34,5 mmol) sont additionn\u00e9s goutte \u00e0 goutte \u00e0 0\u00b0C et sous argon. Le milieu r\u00e9actionnel est agit\u00e9 durant 30 minutes \u00e0 cette temp\u00e9rature, puis 15 heures \u00e0 temp\u00e9rature ambiante. La solution est ensuite concentr\u00e9e sous pression r\u00e9duite avant d'\u00eatre ajout\u00e9 doucement \u00e0 40 mL d'\u00e9ther induisant la formation d'un pr\u00e9cipit\u00e9 jaune p\u00e2le. Ceci fait, le surnageant est enlev\u00e9 \u00e0 l'aide d'une pipette Pasteur et le pr\u00e9cipit\u00e9 est s\u00e9ch\u00e9 sous pression r\u00e9duite pendant 16 heures pour conduire \u00e0 une fine poudre beige (279,5 mg ; 0,68 mmol ; 98%).

CCM (Alumine basique) : $R_f = 0,11$ (AcOEt/pentane 1/1).

RMN ^1H (300 MHz, Acétone- d_6) : δ (ppm) = 8,68 (sl, 2H, H1 et H1') ; 8,22 (sl, 2H, H3 et H3') ; 7,98 (sl, 2H, H4 et H4') ; 7,70 (sl, 2H, H2 et H2') ; 4,56 (sl, 4H, H6 et H6') ; 3,90 (sl, 4H, H10 et H10') ; 3,57 (sl, 2H, H7 et H7') ; 2,40 (sl, 2H, H8_{ax} et H8'_{ax}) ; 1,84 (sl, 2H, H8_{eq} et H8'_{eq}) ; 1,59 et 1,41 (2 sl, 4H, H9 et H9').

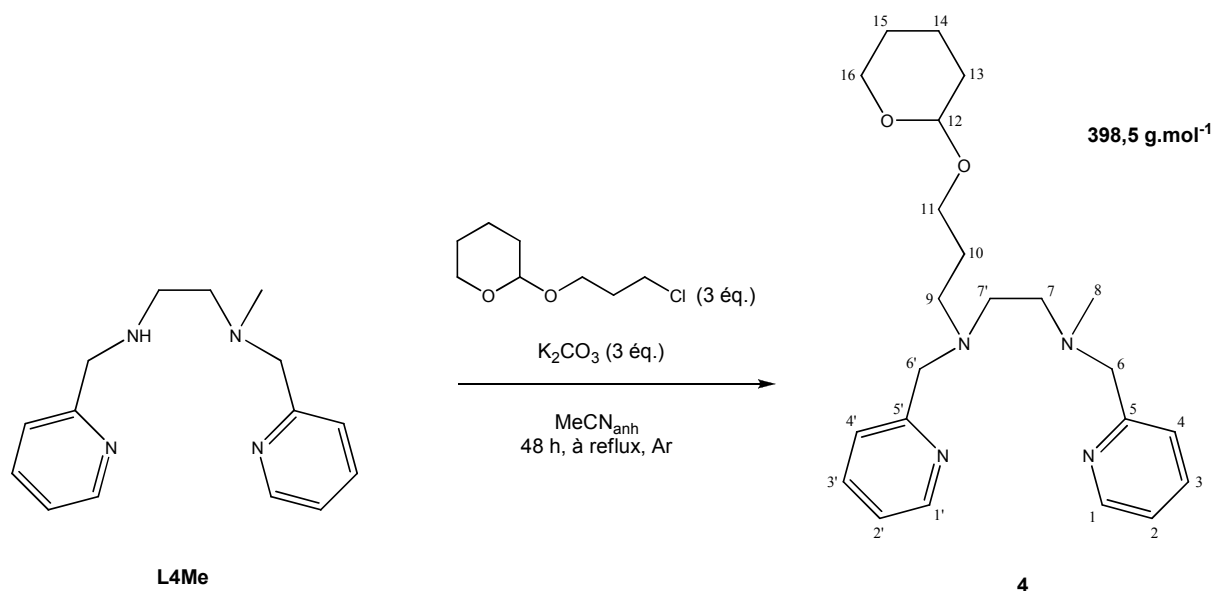
RMN ^{13}C (300 MHz, Acétone- d_6) : δ (ppm) = 171,0 (C11 et C11') ; 152,2 (C5 et C5') ; 145,5 (C1 et C1') ; 142,2 (C3 et C3') ; 125,6 et 125,2 (C2, C2', C4 et C4') ; 65,2 (C7 et C7') ; 62,1 (C10 et C10') ; 51,4 (C6 et C6') ; 24,2 (C8 et C8' ou C9 et C9').

SM (ESI, Acétone) : $m/z = 413,7$ (100, $[\text{M}+\text{H}]^+$) ; 435,5 (20, $[\text{M}+\text{Na}]^+$).

I-2. Les ligands possédant un motif de reconnaissance pour HSA

➤ Le ligand L4MeC₃-Ibu

- Composé 4**



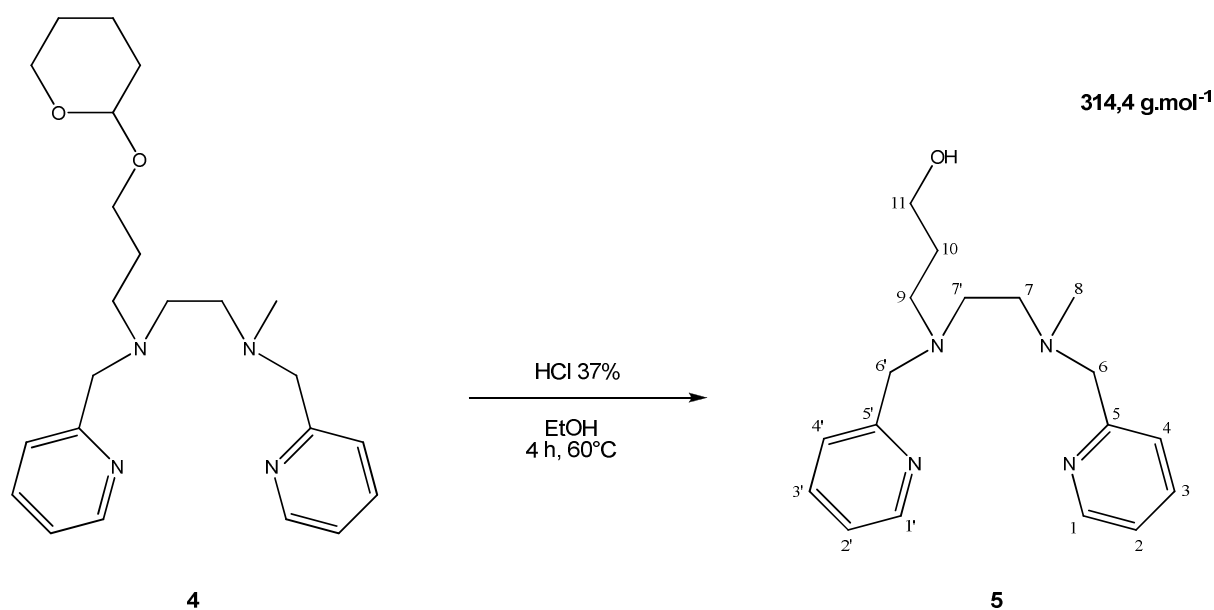
Du **L4Me** (1 g ; 4 mmol) et du K_2CO_3 (1,66 g ; 12 mmol ; 3 éq.) sont dissous dans 25 mL d'acétonitrile anhydre. Ceci fait, 2 mL de 3-chloropropoxytétrahydropyrane (2,15 g ; 12 mmol ; 3 éq.) sont additionnés goutte à goutte. Après agitation du milieu réactionnel, à reflux, sous argon, pendant 48 heures, celui-ci est concentré sous pression réduite, puis repris dans du dichlorométhane avant d'être lavé deux fois avec une solution saturée en Na_2CO_3 jusqu'à

obtenir un pH d'environ 10 et une solution saturée en NaCl. Après extraction des phases aqueuses avec du dichlorométhane (3 fois), les phases organiques sont rassemblées, puis séchées sur Na₂SO₄, filtrées, et évaporées sous pression réduite pour conduire à une huile jaune de 2,98 g. Le produit est purifié sur colonne de gel de silice avec comme éluants : acétone/cyclohexane/triéthylamine (12/12/1), puis acétone (100%). Le composé **4** est obtenu sous la forme d'une huile jaune (736 mg ; 1,85 mmol ; 46%).

CCM (Silice) : R_f = 0,38 (acétone/cyclohexane/NEt₃ 12/12/1).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) = 8,45 (d, 2H, H1 et H1', J = 4,5 Hz) ; 7,56 (t, 2H, H3 et H3', J = 7,8 Hz) ; 7,40 (dd, 2H, H4 et H4', J₁ = 7,8 et J₂ = 25,2 Hz) ; 7,07 (sl, 2H, H2 et H2') ; 4,49 (s, 1H, H12) ; 3,73 (m, 4H, H6' et H11) ; 3,63 (s, 2H, H6) ; 3,39 (m, 2H, H16) ; 2,63 (m, 6H, H7, H7' et H9) ; 2,20 (s, 3H, H8) ; 1,75 (t, 2H, H13, J = 6,6 Hz) ; 1,44 (sl, 4H, H14 et H15).

• *Composé 5*

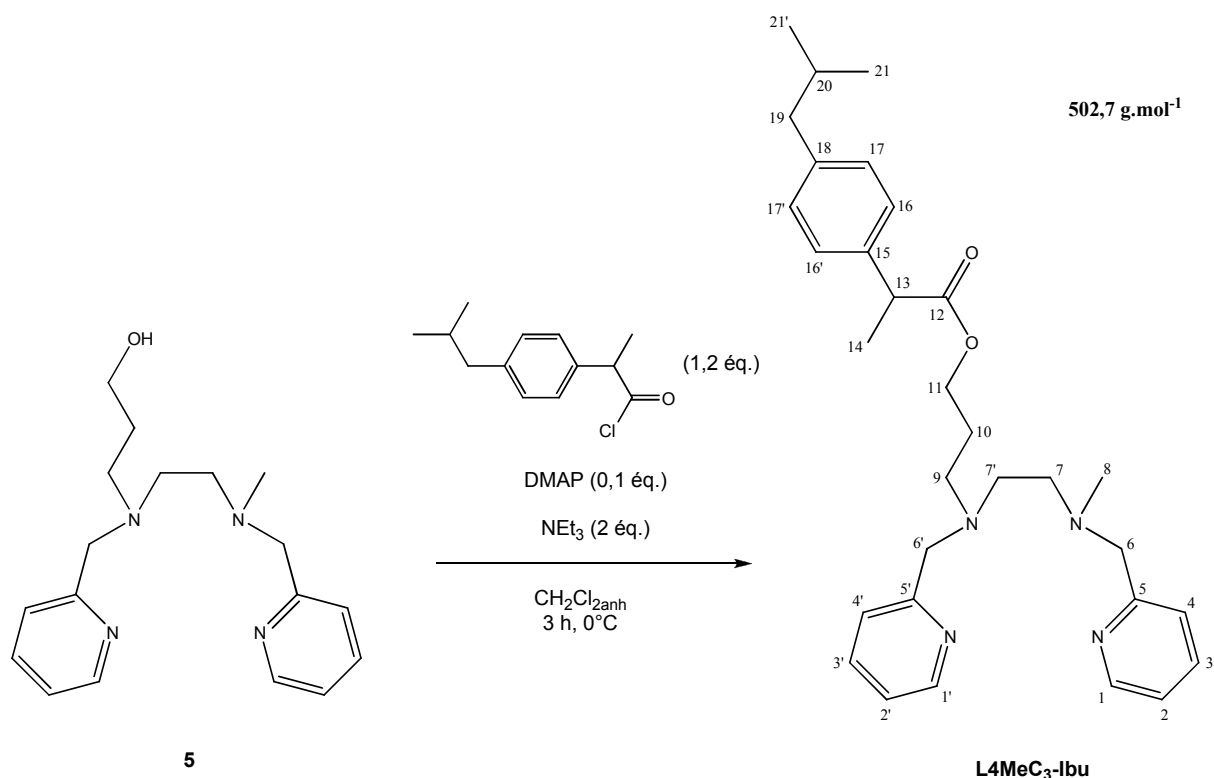


102 µL d'acide chlorhydrique à 37% (121,54 mg ; 3,33 mmol ; 1,8 éq.) sont additionnés goutte à goutte à une solution de composé **4** (736 mg ; 1,85 mmol) dans 30 mL d'éthanol absolu. La solution est ensuite agitée à 60°C pendant 4 heures. Puis, le solvant est évaporé sous pression réduite et le résidu huileux obtenu est repris dans de l'eau avant d'être lavé avec du dichlorométhane (3 fois). La phase aqueuse est ensuite basifiée avec une solution de soude 1M, puis celle-ci est extraite 3 fois avec du dichlorométhane. Les phases organiques

rassemblées sont séchées sur Na₂SO₄, filtrées, et évaporées sous pression réduite pour donner une huile orangée (554 mg ; 1,76 mmol ; 95%).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) = 8,10 (d, 2H, H1 et H1') ; 7,21 (m, 2H, H3 et H3') ; 7,04 (m, 2H, H4 et H4') ; 6,73 (m, 2H, H2 et H2') ; 5,04 (sl, 1H, OH) ; 3,35 (m, 4H, H6'et H11) ; 3,24 (s, 2H, H6) ; 2,30 (m, 4H, H7 et H9) ; 2,22 (t, 2H, H7', *J* = 6 Hz) ; 1,81 (s, 3H, H8) ; 1,36 (m, 2H, H10).

• *L4MeC₃-Ibu*



Du composé **5** (554 mg ; 1,76 mmol) est dissous dans 20 mL de dichlorométhane anhydre. Après ajout à la solution de *N,N*-diméthylaminopyridine (DMAP) (22 mg ; 0,18 mmol) et 489 µL de triéthylamine (356 mg ; 3,52 mmol), le chlorure d'acyle (474 mg ; 2,11 mmol) est additionné goutte à goutte à 0°C, induisant l'apparition d'une couleur marron foncé à la solution avec une opacité, celle-ci étant jaune clair et limpide au départ. Après 3 heures d'agitation du milieu réactionnel à cette même température, celui-ci est lavé 3 fois avec une solution saturée en Na₂SO₄. Les phases aqueuses obtenues sont ensuite extraites 3 fois avec du dichlorométhane, puis les phases organiques rassemblées sont lavées une fois avec une solution saturée en NaCl. Ceci fait, les phases organiques sont séchées sur Na₂SO₄, filtrées, et évaporées sous pression réduite pour conduire à une huile marron foncé de 1,02 g. Le produit

est purifié sur colonne de gel de silice avec comme éluants : acétone/cyclohexane/triéthylamine (30/19/1), puis acétone (100%). Le ligand **L4MeC₃-Ibu** est obtenu sous la forme d'une huile orangée (796 mg ; 1,58 mmol ; 90%).

CCM (Silice) : $R_f = 0,39$ (acétone/cyclohexane/ NEt_3 30/19/1).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) = 8,32 (m, 2H, H1 et H1') ; 7,40 (m, 2H, H3 et H3') ; 7,21 (m, 2H, H4 et H4') ; 6,93 (m, 6H, H2, H2', H16, H16', H17 et H17') ; 3,92 (t, 2H, H11, $J = 6,3$ Hz) ; 3,55 (s, 2H, H6') ; 3,49 (s, 2H, H6) ; 3,44 (q, 1H, H13) ; 2,45 (m, 4H, H7 et H7') ; 2,32 (t, 2H, H9, $J = 6,9$ Hz) ; 2,24 (d, 2H, H19, $J = 7,2$ Hz) ; 2,06 (s, 3H, H8) ; 1,61 (m, 3H, H10 et H20) ; 1,26 (d, 3H, H14, $J = 6,9$ Hz) ; 0,70 (d, 6H, H21 et H21', $J = 6,6$ Hz).

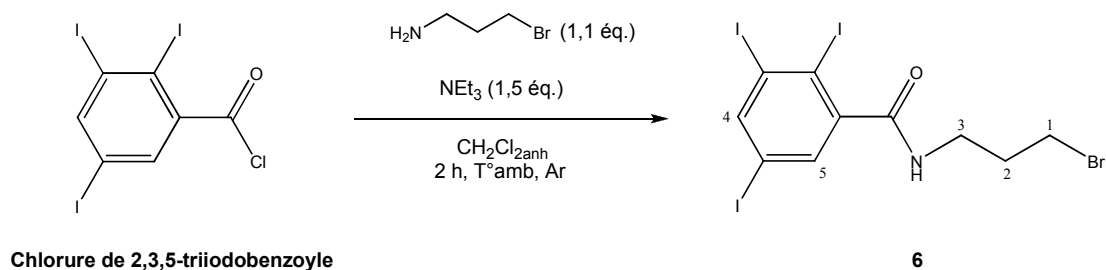
RMN ¹³C (300 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) = 174,3 (C12) ; 160,0 (C5) ; 159,1 (C5') ; 148,7 (C1 et C1') ; 140,2 (C18) ; 137,7 (C15) ; 136,2 (C3 et C3') ; 129,1 (C17 et C17') ; 127,0 (C16 et C16') ; 122,7 (C2 et C2') ; 121,7 (C4 et C4') ; 63,8 (C6) ; 62,6 (C11) ; 60,7 (C6') ; 55,4 (C7) ; 54,2 (C9) ; 52,0 (C7') ; 50,9 (C8) ; 44,9 (C19) ; 42,7 (C13) ; 30,0 (C20), 26,3 (C10) ; 22,3 (C21 et C21') ; 18,3 (C14).

SM (ESI, MeOH) : $m/z = 503,3$ (100, $[\text{M}+\text{H}]^+$) ; $381,3$ (10, $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_5\text{H}_4\text{NCH}_2\text{NHCH}_3]^+$).

➤ Le ligand **L4MeC₃NH-TIB**

- 3-bromopropane (1,2,3-triiodobenzamide) (composé **6**)

619,8 g.mol⁻¹

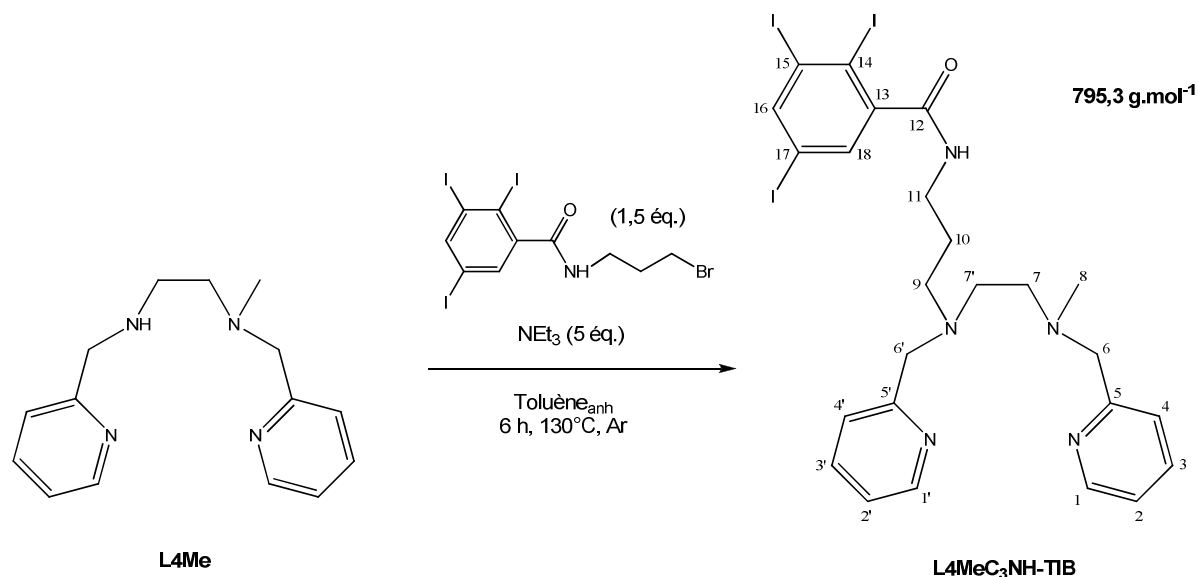


Du bromure de 3-bromopropylammonium (1,44 g ; 6,58 mmol ; 1,1 éq.) est dissous dans 20 mL de dichlorométhane anhydre. Ensuite, 917 μL de triéthylamine (668 mg ; 6,60 mmol ; 1,1 éq.) sont ajoutés à 0°C, sous argon, pour donner la 3-bromopropylamine. Ceci fait, du chlorure de 2,3,5-triiodobenzoyl (6 mmol) dissous dans 20 mL de dichlorométhane

anhydre et 1,25 mL de triéthylamine (1,5 éq.) dans 10 mL de dichlorométhane anhydre sont additionnés lentement et simultanément. Un précipité blanc se forme pendant les 2 heures d'agitation du milieu réactionnel en laissant revenir celui-ci à température ambiante. Le milieu réactionnel est ainsi filtré, et le précipité lavé avec du dichlorométhane. Le filtrat est quant à lui lavé avec une solution saturée en NaCl, séché sur Na₂SO₄, filtré et évaporé sous pression réduite pour conduire à un solide blanc de même aspect que celui obtenu précédemment. Par conséquent, les deux fractions sont réunies et séchées sous pression réduite pour conduire à un solide blanc "nacré" (3,77 g ; 6 mmol ; ~ 100%).

RMN ¹H (300 MHz, MeOD/CD₂Cl₂ 1/1) : δ (ppm) = 8,28 (s, 1H, H4) ; 7,54 (s, 1H, H5) ; 3,51 (m, 4H, H1 et H3) ; 2,19 (m, 2H, H2).

• *L4MeC₃NH-TIB*



Du **L4Me** (100 mg ; 0,39 mmol) est dissous dans 5 mL de toluène anhydre avant l'ajout de 270 µL de triéthylamine séchée sur MgSO₄ (197 mg ; 1,95 mmol). Le composé **6** (366 mg ; 0,59 mmol) est ensuite ajouté, puis le milieu réactionnel est agité, sous pression d'argon, à 130°C, pendant six heures. Le toluène est par la suite évaporé sous pression réduite avec ajout d'eau pour former un azeotrope. Ensuite, le résidu solide marron clair obtenu est repris dans du dichlorométhane et lavé avec une solution saturée en Na₂CO₃ jusqu'à obtenir un pH voisin de 11. Ceci fait, la solution est extraite trois fois avec du dichlorométhane et lavée une fois avec une solution saturée en NaCl. Les phases organiques obtenues sont regroupées, séchées sur Na₂SO₄, filtrées, puis évaporées sous pression réduite pour donner un solide orangé de 378 mg. Le produit est purifié sur colonne de gel de silice avec comme

éluants : dichlorométhane/méthanol (3%), puis méthanol (100%). Le ligand **L4MeC₃NH-TIB** est obtenu sous la forme d'un solide orangé (169 mg ; 0,21 mmol ; 54%).

CCM (Silice) : $R_f = 0,28$ (CH₂Cl₂/MeOH (5%) /NEt₃ (2%)).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) = 8,49 et 7,96 (dd, 2H, H1 et H1', $J_1 = 3,9$ Hz et $J_2 = 159$ Hz) ; 8,10 (s, 1H, H16) ; 7,58 (m, 2H, H3 et H3') ; 7,39 (s, 1H, H18) ; 7,26 (m, 2H, H4 et H4') ; 7,09 (m, 2H, H2 et H2') ; 3,71 (s, 2H, H6') ; 3,58 (s, 2H, H6) ; 3,51 (m, 2H, H11) ; 2,66 (m, 6H, H7, H7' et H9) ; 2,13 (s, 3H, H8) ; 1,81 (m, 2H, H10).

RMN ¹³C (300 MHz, CDCl₃) : δ (ppm) = 168,3 (C12) ; 158,8 (C5 ou C5') ; 158,1 (C5 ou C5') ; 148,8 (C1 et C1') ; 147,5 (C13) ; 146,5 (C16) ; 136,4 (C18) ; 134,8 (C3 et C3') ; 123,2 et 122,1 (C2, C2', C4 et C4') ; 112,2 (C15) ; 107,1 (C14) ; 94,2 (C17) ; 63,1 (C6) ; 59,7 (C6') ; 54,9 (C7) ; 52,3 (C9) ; 51,6 (C7') ; 42,6 (C8) ; 38,4 (C11) ; 25,8 (C10).

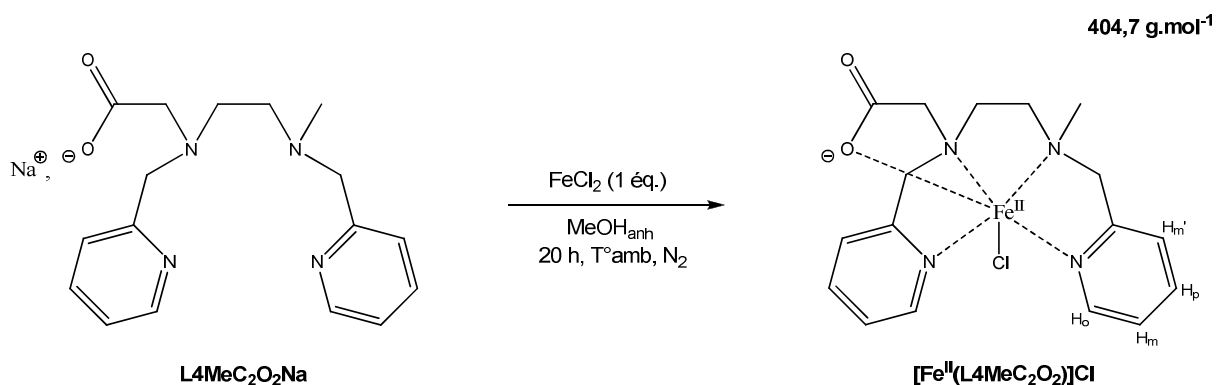
SM (ESI, MeOH) : $m/z = 796,1$ (100, [M+H]⁺).

II- Synthèse des complexes

Tous les complexes de fer(II) ont été synthétisés en boîte à gants sous atmosphère inerte de diazote avec l'utilisation de solvants distillés et dégazés avec de l'argon.

II-1. Les complexes destinés à être insérés dans *NikA*

➤ Le complexe $[Fe^{II}(L4MeC_2O_2)Cl]$



Du chlorure de fer(II) (21 mg ; 166 μ mol) est ajouté petit à petit à une solution de **L4MeC₂O₂Na** (56 mg ; 166 μ mol) dans 10 mL de méthanol anhydre faisant passer la solution d'orangé à jaune-orangé. Après 20 heures d'agitation, la solution est concentrée sous pression réduite, puis mise à -4°C pendant 4 jours sans la formation de précipité. Ainsi, de l'éther est ajouté à la solution induisant la formation d'un précipité jaunâtre. Celui-ci est ensuite récupéré sur fritté par filtration, et après séchage sous courant de diazote pendant 6 heures, un solide jaune pâle est obtenu. Quant au filtrat, de couleur jaune vif, il est évaporé à sec sous pression réduite pour donner une fine poudre jaune.

❖ Espèce non soluble dans l'éther (non pesée) :

RMN ¹H_{para} (300 MHz, MeOD/CD₃CN 1/1) : δ (ppm) = 167,7 (H_o) ; 137,3 ; 130,9 ; 119,6 ; 106,0 et 76,5 (CH₂) ; 52,9 ; 51,4 ; 48,9 ; 47,2 et 44,9 (H_m, H_m' et CH₂) ; 20,1 et 13,4 (H_p et/ou CH₂) ; -13,0 (H_p ou CH₂/CH₃).

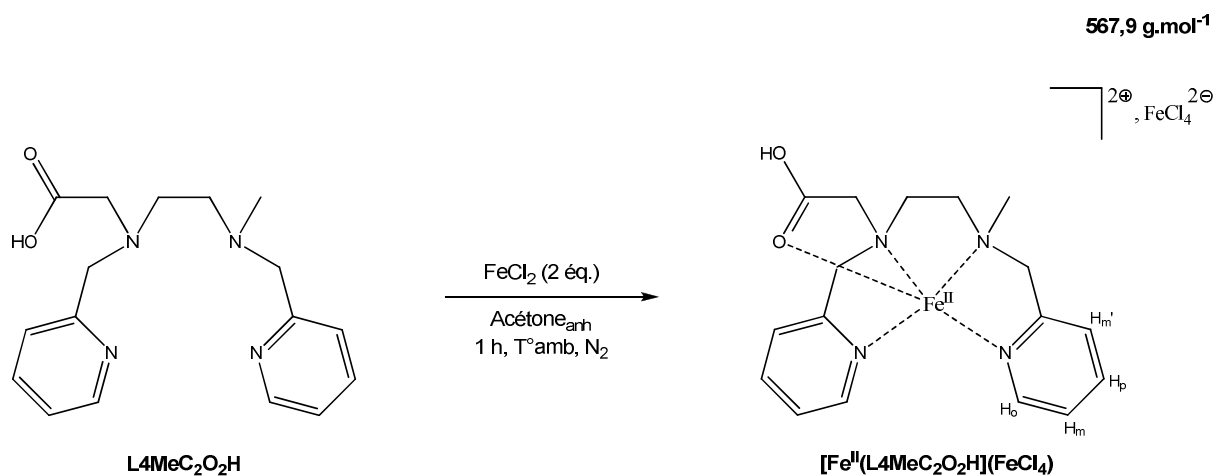
SM (ESI, MeOH) : m/z = 369,3 (28, [L-H+Fe^{II}]⁺) ; 404,2 (100, [L-H+Cl+Fe^{III}]⁺).

❖ Espèce soluble dans l'éther (27,5 mg ; 68 μ mol ; 41%) :

RMN $^1\text{H}_{\text{para}}$ (300 MHz, CD_2Cl_2) : δ (ppm) = 164,2 (H_o) ; 139,7 ; 120,3 ; 112,2 ; 99,4 et 76,1 (CH_2) ; 49,8 ; 48,8 ; 47,5 et 43,6 (H_m , H_m' et CH_2) ; 26,24 (H_p) ; -14,52 (H_p ou CH_2/CH_3).

SM (ESI, CH_2Cl_2) : m/z = 369,3 (100, $[\text{L}-\text{H}+\text{Fe}^{\text{II}}]^+$) ; 405,1 (17, $[\text{L}+\text{H}+\text{Cl}+\text{Fe}^{\text{II}}]^+$).

➤ *Le complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_2\text{O}_2\text{H})(\text{FeCl}_4)$*

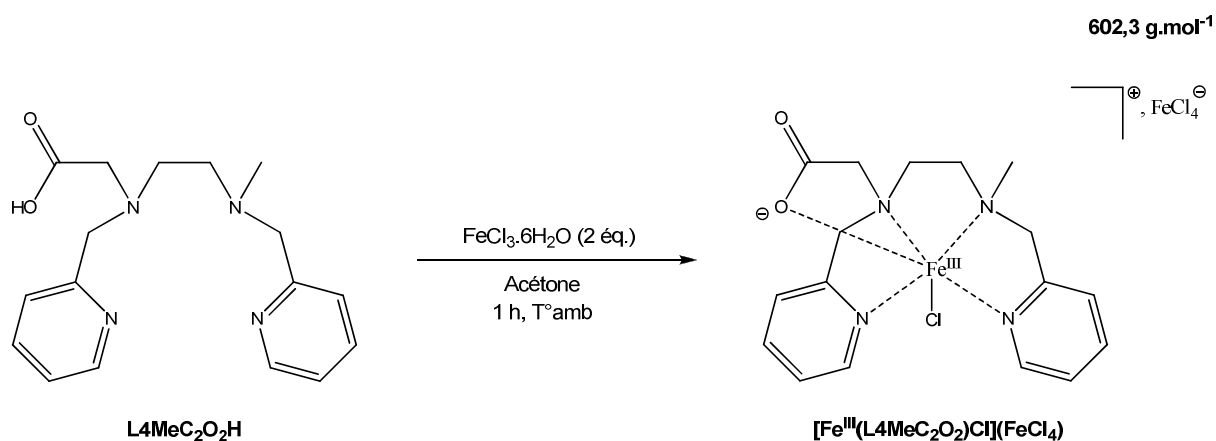


Le ligand **L4MeC₂O₂H** (297 mg ; 0,94 mmol) est solubilisé dans 20 mL d'acétone anhydre avant que ne soit ajouté du chlorure de fer(II) (250 mg ; 1,88 mmol). Après 1 heure d'agitation, la solution est concentrée sous pression réduite induisant un début de précipitation. Ceci fait, de l'éther est ajouté à la solution provoquant la formation d'un précipité jaune d'or. Celui-ci est ensuite récupéré sur fritté par filtration, et après lavage à l'éther et séchage sous diazote, un solide jaune est obtenu (397 mg ; 0,70 mmol ; 74%).

RMN $^1\text{H}_{\text{para}}$ (300 MHz, Acétone- d_6) : δ (ppm) = Nombreux pics entre -17 et 162 ppm.

SM (ESI, Acétone) : m/z = 369,3 (100, $[\text{L}-\text{H}+\text{Fe}^{\text{II}}]^+$).

➤ *Le complexe $[Fe^{III}(L4MeC_2O_2)Cl](Fe^{III}Cl_4)$*



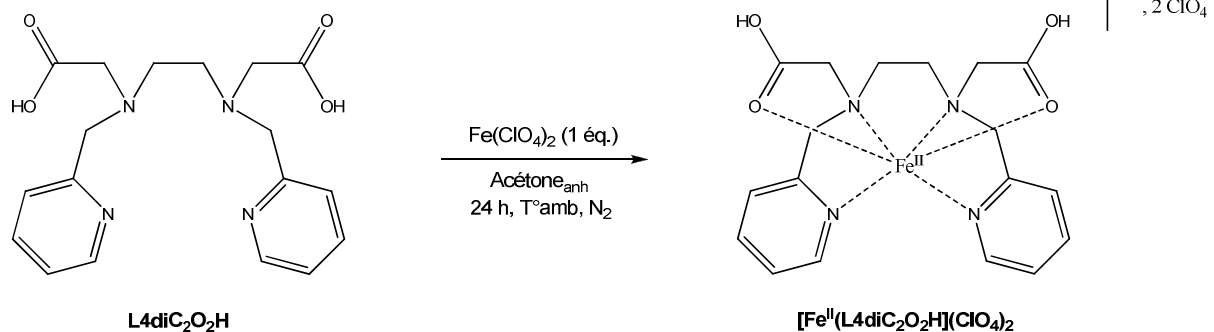
Le ligand **L4MeC₂O₂H** (229 mg ; 0,73 mmol) est dissous dans 20 mL d'acétone donnant une solution jaune clair. Du chlorure de fer(III) hexahydraté (395 mg ; 1,46 mmol) est ensuite ajouté progressivement à la solution la faisant passer à une couleur rouge brique. Après 1 heure d'agitation, à l'air et à température ambiante, de l'éther est ajouté au milieu réactionnel provoquant la formation d'une pâte. Celle-ci est reprise dans du méthanol puis, de l'éther est ajouté induisant une précipitation. Ceci fait, le précipité est récupéré par filtration et lavé avec de l'éther avant d'être séché sous pression réduite pour aboutir à une fine poudre marron clair (375 mg ; 0,62 mmol ; 85%).

RMN ¹H_{para} (300 MHz, CD₃CN) : δ (ppm) = 130,7 ; 109,2 ; 105,8 ; 95,4 ; 57,6 ; 53,2 ; 50,2 ; 43,9 ; 42,4 ; 30,9 ; 28,9 ; 12,9 ; 11,4 ; 8,01 ; -3,84 ; -6,21 ; -9,03 ; -19,4.

SM (ESI, Acétone) : m/z = 404,3 (100, [L-H+Cl+Fe^{III}]⁺).

➤ *Le complexe $[Fe^{II}(L4diC_2O_2H)](ClO_4)_2$*

613,1 g.mol⁻¹



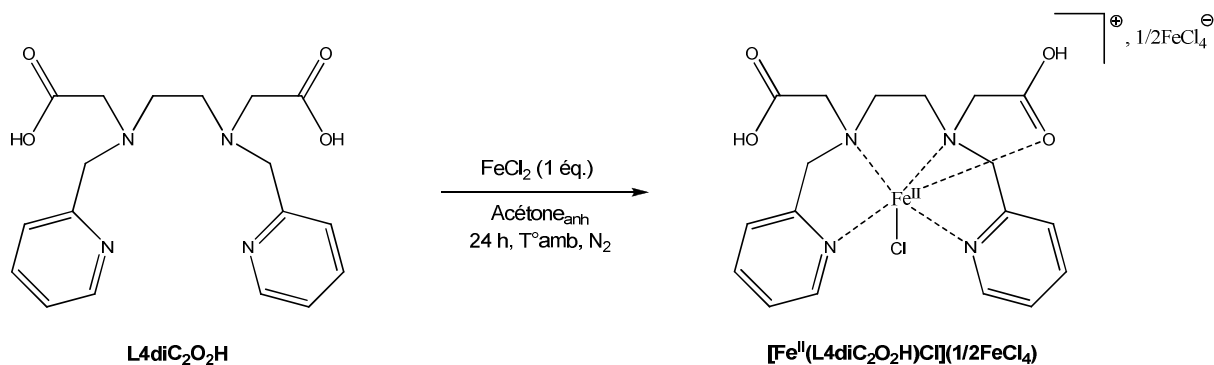
Du perchlorate de fer(II) (461 mg ; 1,81 mmol) est ajouté petit à petit à une solution de **L4diC₂O₂H** (649 mg ; 1,81 mmol) dissous dans 20 mL d'acétone anhydre. Dès l'ajout du perchlorate de fer(II), la solution devient jaune-vert alors qu'elle était incolore auparavant. Après 24 heures d'agitation, le milieu réactionnel est concentré sous pression réduite, puis de l'éther est ajouté induisant la formation d'un précipité verdâtre qui, après séchage en boîte à gants, donne une fine poudre verte (563 mg ; 0,92 mmol ; 51%).

RMN ¹H_{para} (300 MHz, Acétone-*d*₆) : δ (ppm) = 125,9 (H_o) ; 98,3 ; 89,8 ; 67,9 (CH₂) ; 57,4 ; 49,1 ; 45,3 (H_m, H_m' et CH₂) ; 13,0 (H_p) ; -29,7 (H_p ou CH₂).

SM (ESI, Acétone) : m/z = 448,2 (100, [L-H+Cl+Fe^{III}]⁺) ; 413,3 (46, [L-H+Fe^{II}]⁺).

➤ *Le complexe $[Fe^{II}(L4diC_2O_2H)Cl](1/2Fe^{II}Cl_4)$*

548,5 g.mol⁻¹



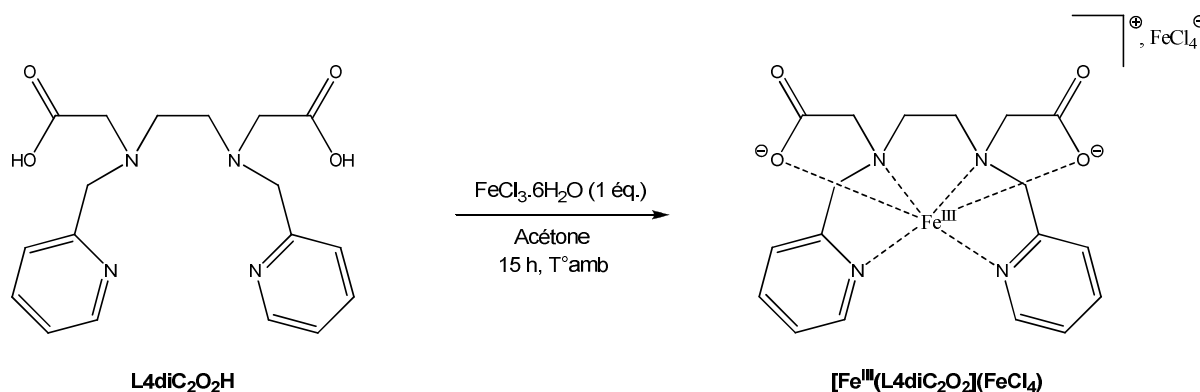
Le ligand **L4diC₂O₂H** (74 mg ; 206 μmol) est solubilisé dans 15 mL d'acétone anhydre. Ensuite, du chlorure de fer(II) (26 mg ; 206 μmol) est ajouté peu à peu à la solution induisant l'apparition d'une couleur jaune vif ainsi qu'un précipité. Après 15 heures d'agitation, de l'éther est ajouté au milieu réactionnel afin de faire précipiter tout le complexe. La filtration suivie du séchage du précipité jaunâtre en boîte à gants conduit à une fine poudre jaune (67 mg ; 122 μmol ; 59%).

RMN ¹H_{para} (300 MHz, Acétone-*d*₆) : δ (ppm) = 134,0 ; 95,4 ; 52,4 ; 50,6 ; 33,4 ; 25,2 ; 14,0 ; -20,7 ; -33,4.

SM (ESI, Acétone) : m/z = 413,3 (100, [L-H+Fe^{II}]⁺) ; 440,3 (64, [2(L-2H)+3Fe^{II}]²⁺/2) ; 503,3 (33, [L-2H+Cl+2Fe^{II}]⁺).

➤ *Le complexe $[Fe^{III}(L4diC_2O_2)](Fe^{III}Cl_4)$*

609,9 g.mol⁻¹



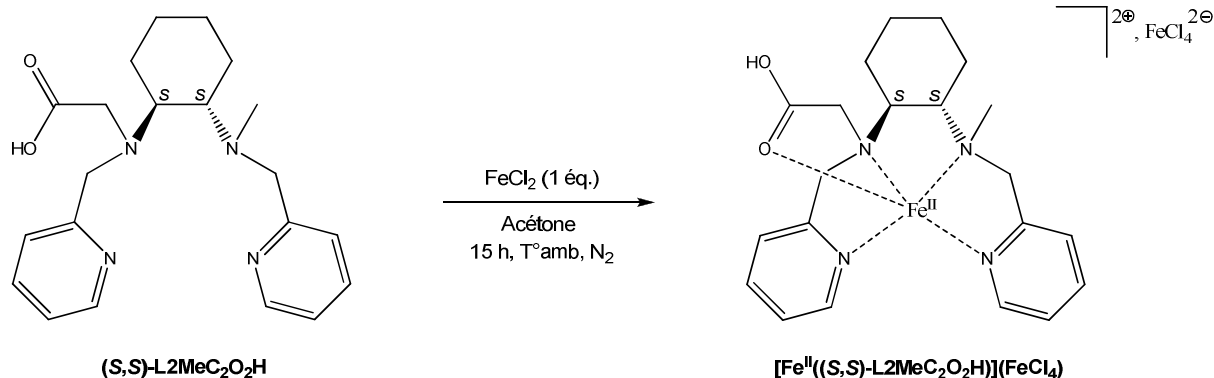
Le ligand **L4diC₂O₂H** (100 mg ; 279 µmol) est mis en suspension dans 10 mL d'acétone donnant une solution jaune pâle. Du chlorure de fer(III) hexahydraté (75 mg ; 279 µmol), dissous dans 2 mL d'acétone, est ajouté goutte à goutte à la solution de ligand, ce qui induit une coloration orangée sans précipitation aucune. Après 15 heures d'agitation à température ambiante, le milieu réactionnel est concentré sous pression réduite, puis de l'éther est ajouté provoquant la formation d'un précipité jaunâtre. La solution est ensuite filtrée et le précipité séché sous pression réduite pour fournir une fine poudre jaune (75 mg ; 123 µmol ; 44%).

RMN ¹H_{para} (300 MHz, CD₃CN) : δ (ppm) = 135,2 (H_o) ; 116,0 et 106,5 (CH₂) ; 47,5 (H_m et H_m') ; 13,0 (H_p).

SM (ESI, Acétone) : m/z = 412,2 (100, [L-2H+Fe^{III}]⁺) ; 448,1 (63, [L-H+Cl+Fe^{III}]⁺) ; 470,2 (26, [L-2H+Na+Cl+Fe^{III}]⁺) ; 506,2 (24, [L-H+Na+2Cl+Fe^{III}]⁺).

➤ *Le complexe $[Fe^{II}((S,S)\text{-}L2MeC_2O_2H)](Fe^{II}Cl_4)$*

622 g.mol⁻¹



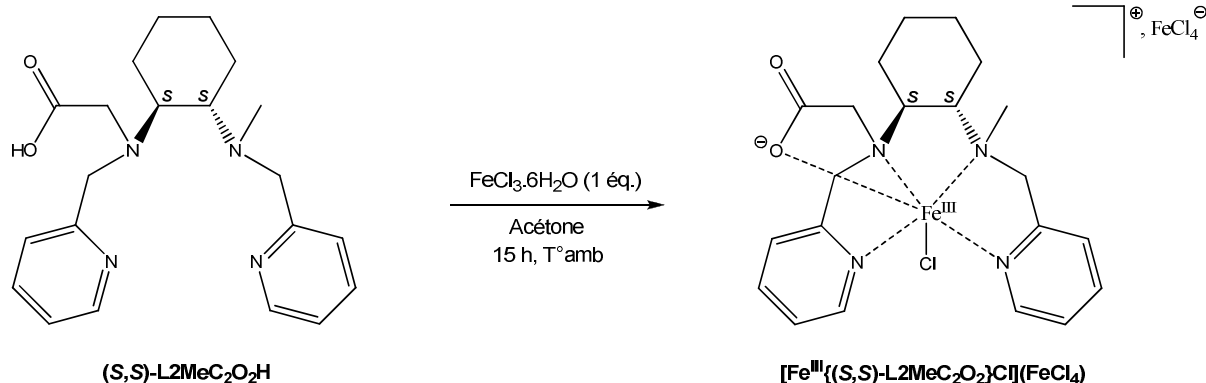
Du chlorure de fer(II) (46 mg ; 364 μmol) dans 5 mL d'acétone anhydre est ajouté petit à petit à une solution de ligand $(S,S)\text{-}L2MeC_2O_2H$ (134 mg, 364 μmol) dans 10 mL d'acétone anhydre. La solution passe d'une couleur jaune pâle à une couleur jaune vif. Après 15 heures d'agitation à température ambiante, le milieu réactionnel est concentré sous pression réduite, puis de l'éther est ajouté induisant la précipitation d'un solide jaunâtre qui, après lavage avec de l'éther et séchage sous diazote, aboutit à une fine poudre jaune (135 mg ; 217 μmol ; 60%).

RMN $^1H_{\text{para}}$ (300 MHz, Acétone- d_6) : pléthore de pics entre -10 et 160 ppm.

SM (ESI, Acétone) : $m/z = 423,4$ (100, $[L\text{-}H+Fe^{II}]^+$) ; $459,2$ (24, $[L+Cl+Fe^{II}]$) ; $481,3$ (83, $[L\text{-}H+Cl+Na+Fe^{II}]$).

➤ **Le complexe $[Fe^{III}((S,S)\text{-}L2MeC_2O_2)Cl](Fe^{III}Cl_4)$**

656,4 g.mol⁻¹

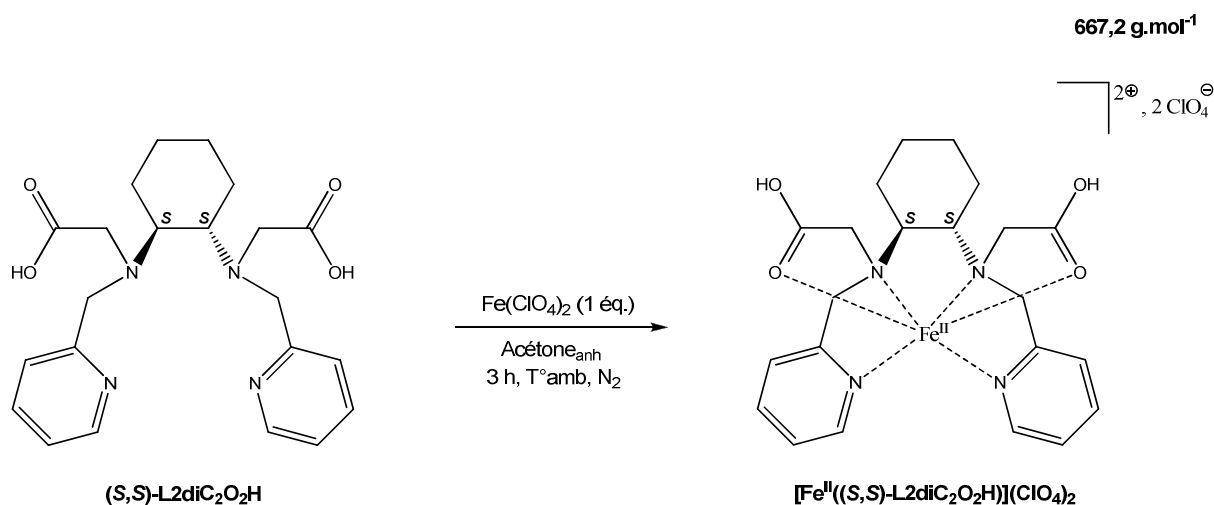


Le ligand $(S,S)\text{-}L2MeC_2O_2H$ (149 mg ; 404 μmol) est dissous dans 6 mL d'acétone donnant une solution jaune. Du chlorure de fer(III) hexahydraté (109 mg ; 404 μmol), dissous dans 4 mL d'acétone, est ajouté goutte à goutte à la solution de ligand induisant une coloration rouge brique. Le milieu réactionnel est ensuite agité à température ambiante 15 heures durant, puis celui-ci est concentré sous pression réduite avant que de l'éther ne soit ajouté provoquant la formation d'un précipité jaunâtre. Ceci fait, le milieu réactionnel est filtré et le solide est séché sous pression réduite pendant 4 heures pour conduire à une fine poudre orangée (89 mg ; 136 μmol ; 34%).

RMN $^1H_{para}$ (300 MHz, CD_3CN) : δ (ppm) = 117,9 (H_o) ; 109,9 ; 93,7 ; 61,9 ; 56,3 ; 53,2 ; -3,68 ; -6,58 et -16,3 (H_p et/ou CH_2/CH_3).

SM (ESI, Acétone) : $m/z = 458,3$ (100, $[L-H+Cl+Fe^{III}]^+$).

➤ *Le complexe $[Fe^{II}((S,S)\text{-}L2diC_2O_2H)](ClO_4)_2$*

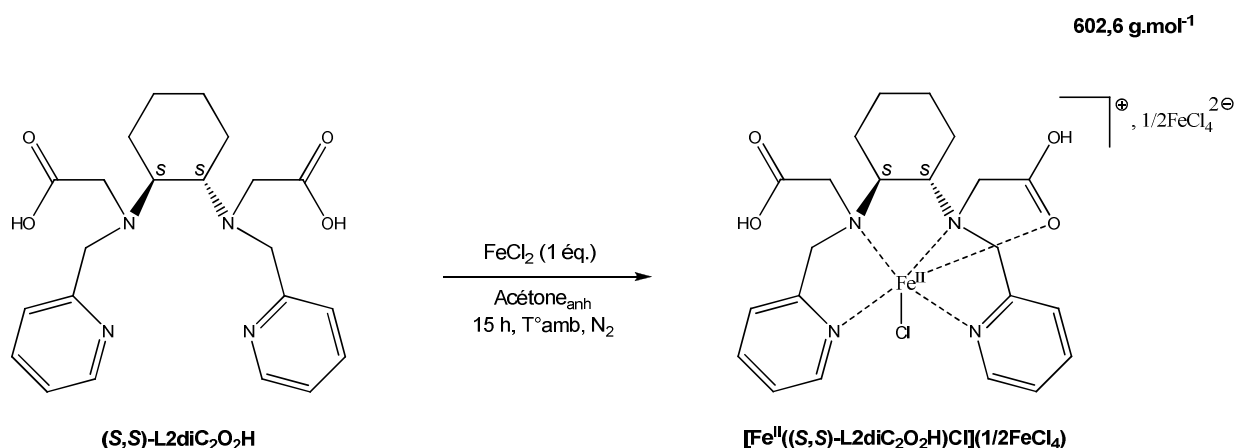


Du perchlorate de fer (II) (31 mg ; 121 μmol), dissous dans 2 mL d'acétone anhydre, est ajouté goutte à goutte à une solution de $(S,S)\text{-}L2diC_2O_2H$ (50 mg ; 121 μmol) dans 3 mL d'acétone anhydre donnant une solution jaune ; celle-ci est agitée pendant 3 heures à température ambiante sous diazote. Aucun précipité ne s'étant formé, la solution est concentrée sous pression réduite, puis de l'éther est ajouté provoquant la précipitation d'un solide orangé. Ceci fait, le surnageant étheré est enlevé avec une pipette Pasteur et le solide est séché en boîte à gants pour conduire à une fine poudre marron clair (35 mg ; 52,5 μmol ; 43%).

RMN $^1H_{para}$ (300 MHz, Acétone- d_6) : δ (ppm) = 127,9 (H_o) ; 97,9 et 88,7 (CH_2) ; 60,3 ; 57,7 ; 49,4 et 45,2 (H_m , H_m' et CH_2) ; 14,8 (H_p) ; -4,63 ; -8,20 et -14,7 (CH_2).

SM (ESI, Acétone) : m/z = 234,2 (64, $[L+Fe^{II}]^{2+}/2$) ; 467,3 (100, $[L-H+Fe^{II}]^+$) ; 566,8 (7, $[L+ClO_4+Fe^{II}]^+$).

➤ *Le complexe $[Fe^{II}((S,S)\text{-}L2diC_2O_2H)Cl](1/2Fe^{II}Cl_4)$*



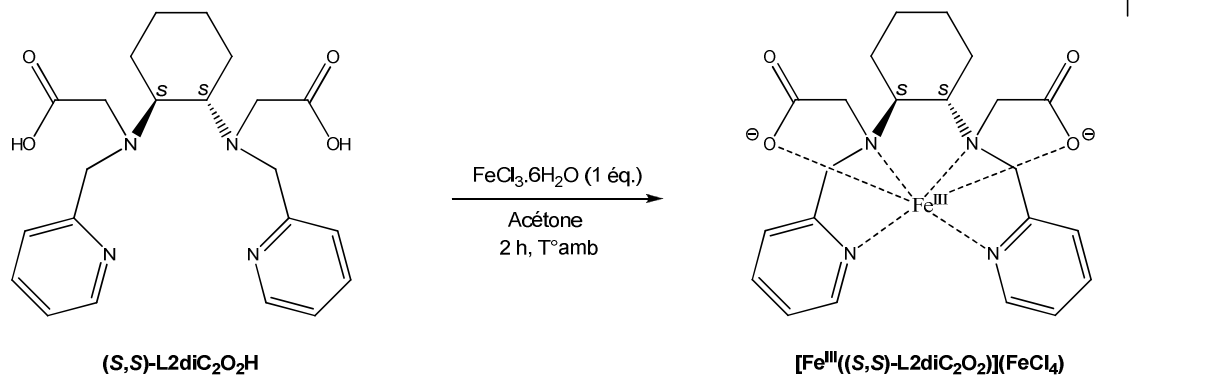
Le ligand $(S,S)\text{-}L2diC_2O_2H$ (30 mg ; 73 μmol) est dissous dans 6 mL d'acétone anhydre donnant une solution jaune pâle. Du chlorure de fer(II) (9 mg ; 73 μmol), dans 4 mL d'acétone anhydre, est ajouté progressivement à la solution induisant une coloration jaune vif. Après agitation pendant 15 heures à température ambiante, sous diazote, le milieu réactionnel est concentré sous pression réduite avant que de l'éther ne soit ajouté, induisant la formation d'un précipité jaunâtre. Ceci fait, la solution est filtrée et le solide séché sous diazote pour aboutir à une fine poudre jaune (26 mg ; 43 μmol ; 59%).

RMN $^1H_{para}$ (300 MHz, Acétone- d_6) : δ (ppm) = 54,8 ; 53,2 ; 51,6 et 42,3 (CH_2 , H_m et H_m') ; 21,5 ; 18,9 ; 17,0 ; 13,6 ; 13,2 ; 10,7 ; 10,3 et 8,14 (CH_2) ; -3,53 ; -3,43 ; -8,08 ; -17,2.

SM (ESI, Acétone) : m/z = 467,4 (100, $[L-H+Fe^{II}]^+$) ; 933,4 (83, $[2(L-H)-H+2Fe^{II}]^+$) ; 955,4 (34, $[2(L-2H)+Na+2Fe^{II}]^+$).

➤ *Le complexe $[Fe^{III}((S,S)\text{-}L2diC_2O_2)](Fe^{III}Cl_4)$*

664 g.mol⁻¹



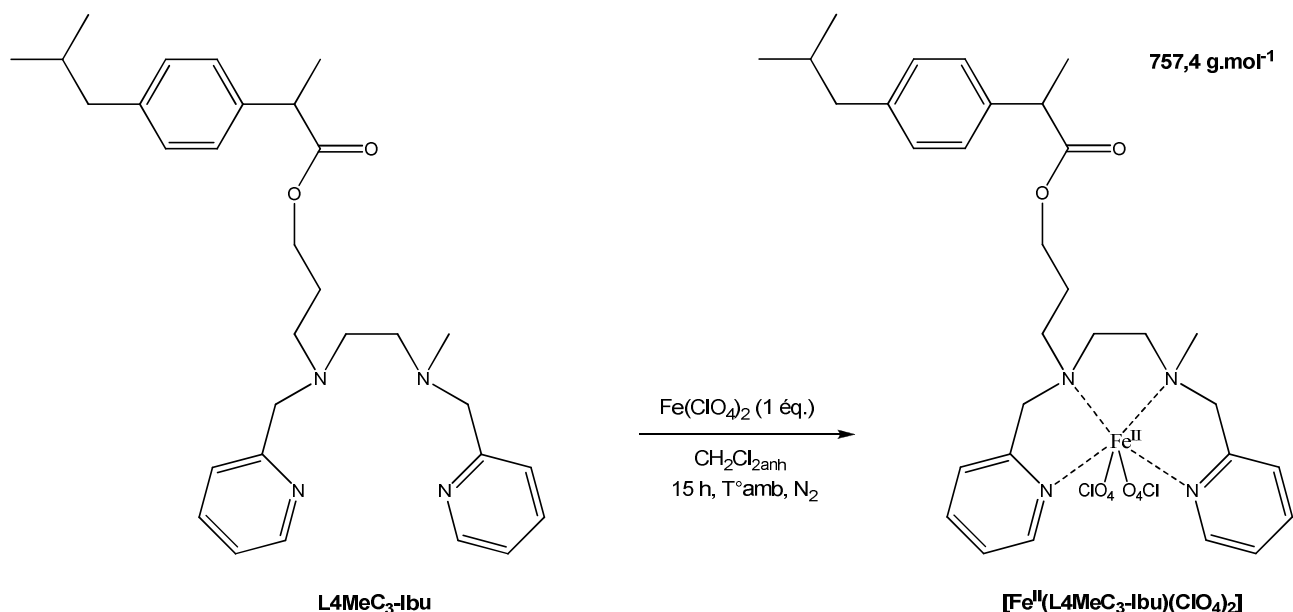
Du chlorure de fer(III) hexahydraté (41 mg ; 153 μmol), solubilisé dans 2 mL d'acétone, est additionné goutte à goutte à une solution de $(S,S)\text{-}L2diC_2O_2H$ (63 mg ; 153 μmol) dans 6 mL d'acétone faisant passer la solution de jaune pâle à orangée. Après 2 heures d'agitation à température ambiante, le milieu réactionnel est concentré sous pression réduite avant l'ajout d'éther qui induit la formation d'un précipité jaunâtre. Après filtration, le solide est lavé avec de l'éther, puis séché sous pression réduite pendant 4 heures pour conduire à une fine poudre jaune (44,6 mg ; 67,2 μmol ; 44%).

RMN $^1H_{para}$ (300 MHz, MeOD) : δ (ppm) = 76,7 ; 58,9 ; 26,7 ; -18,6.

SM (ESI, MeOH) : m/z = 466,3 (100, $[L\text{-}2H + Fe^{III}]^+$) ; 502,2 (5, $[L\text{-}H + Cl + Fe^{III}]^+$).

II-2. Les complexes destinés à être insérés dans HSA

➤ Le complexe $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{L4MeC}_3\text{-Ibu})](\text{ClO}_4)_2$

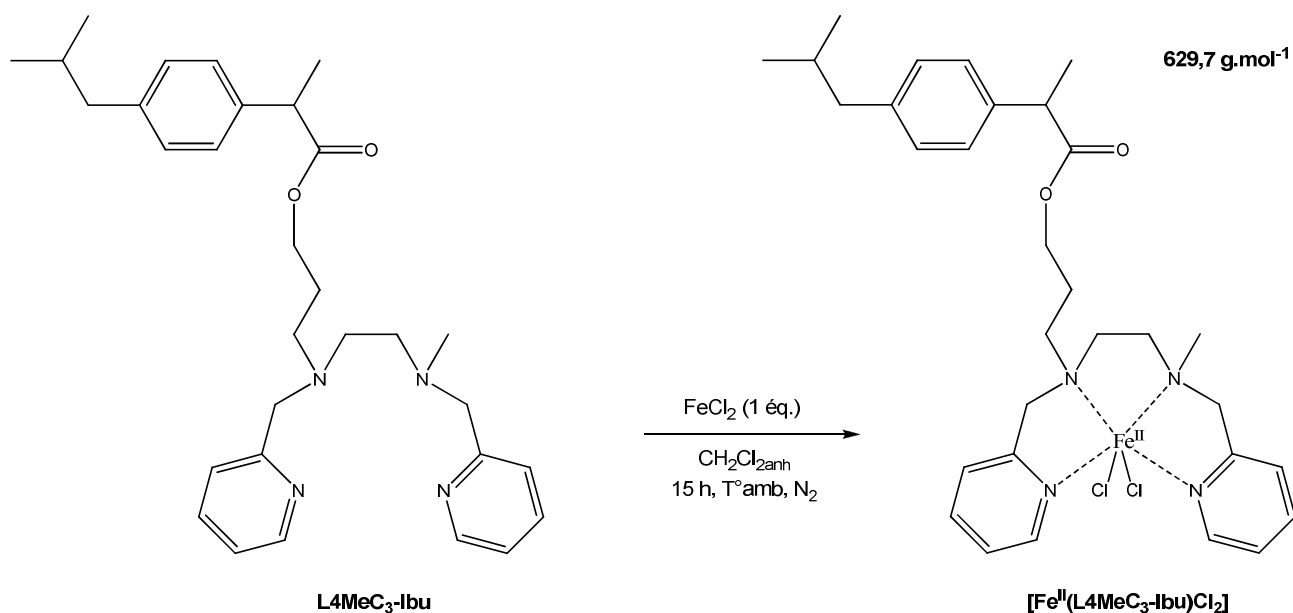


Le ligand **L4MeC₃-Ibu** (500 mg ; 995 μmol) est dissous dans du dichlorom\u00e9thane anhydre donnant une solution jaune p\u00e2le. Du perchlorate de fer(II) est ajout\u00e9 progressivement \u00e0 la solution induisant une coloration rouge. Ceci fait, le milieu r\u00e9actionnel est agit\u00e9 pendant 15 heures. Apr\u00e8s concentration de la solution sous pression r\u00e9duite, de l'\u00e9ther est ajout\u00e9 et le surnageant enlev\u00e9. Un solide marron est r\u00e9cup\u00e9r\u00e9 qui, apr\u00e8s s\u00e9chage sous pression r\u00e9duite, donne une fine poudre marron clair (340 mg ; 450 μmol ; 45%).

RMN ¹H_{para} (300 MHz, CD₂Cl₂) : δ (ppm) = 114 (H_o) ; 90,5 (CH₂) ; 83,9 (CH₂) ; 68,3 (CH₂), 64,4 (CH₂) ; 60,4 (CH₂) ; 49,9 ; 49,0 (H_m et H_m') ; 16,9 ; 12,2 (H_p) ; -10,6 (H_p ou CH₂) ; -16,5 ; -17,1 (H_p ou CH₂/CH₃).

SM (ESI, Ac\u00e9tone) : m/z = 279,2 (84, [L+Fe^{II}]²⁺/2) ; 657,3 (100, [L+ClO₄+Fe^{II}]⁺).

➤ *Le complexe $[Fe^{II}(L4MeC_3-Ibu)Cl_2]$*

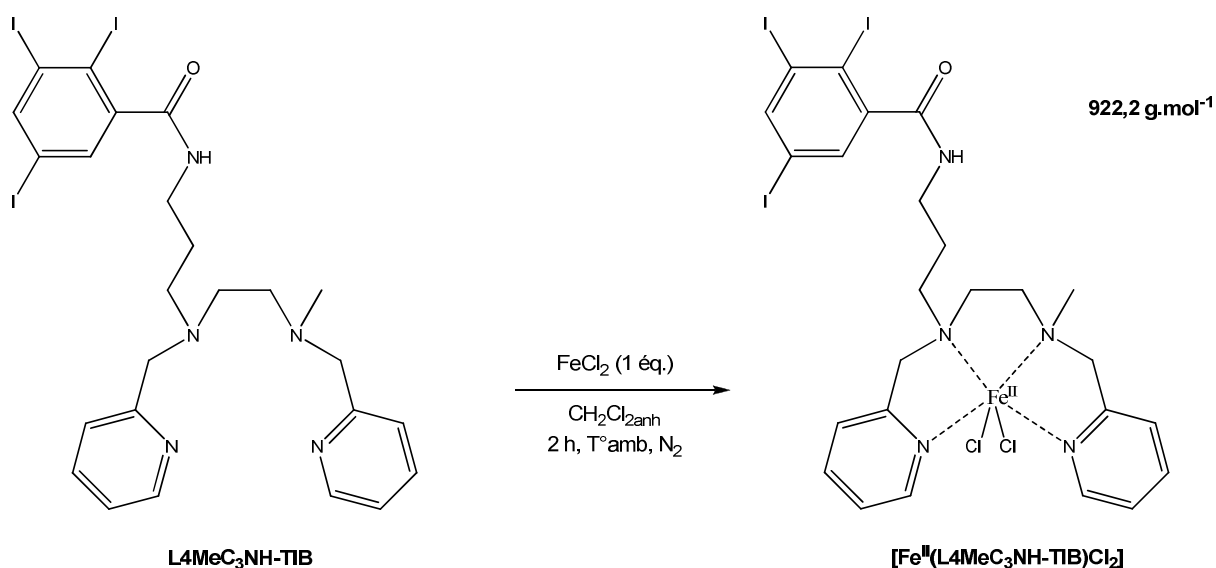


Le ligand **L4MeC₃-Ibu** (102,3 mg ; 203,5 μmol) est solubilisé dans 6 mL de dichlorométhane anhydre donnant une solution jaune pâle. Du chlorure de fer(II) (25,8 mg ; 203,5 μmol), dissous dans 4 mL de dichlorométhane anhydre, est additionné goutte à goutte induisant une coloration jaune vif. Après agitation pendant 15 heures à température ambiante sous diazote, le milieu réactionnel est concentré sous pression réduite avant l'ajout d'éther provoquant la formation d'un précipité jaunâtre ; celui-ci est ensuite séché sous diazote après filtration du milieu réactionnel pour conduire à une fine poudre jaune (107 mg ; 170 μmol ; 84%).

RMN $^1H_{para}$ (300 MHz, CD_2Cl_2) : δ (ppm) = 135,1 (H_o) ; 110,9 (CH_2) ; 96,6 (CH_2) ; 58,5 (CH_2) ; 54,2 et 49,4 (H_m et H_m') ; 20,39 et 15,70 (H_p et/ou CH_2) ; 11,47 (CH_2) ; -8,46 et -9,67 (H_p et/ou CH_2/CH_3).

SM (ESI, CH_2Cl_2) : m/z = 593,5 (100, $[L+Cl+Fe^{II}]^+$).

➤ *Le complexe $[Fe^{II}(L4MeC_3NH-TIB)Cl_2]$*



Le ligand **L4MeC₃NH-TIB** (43,7 mg ; 55 μmol) est dissous dans 10 mL de dichlorom\u00e9thane anhydre, puis du chlorure de fer(II) (7 mg ; 55 μmol) est ajout\u00e9 peu \u00e0 peu induisant une coloration jaune vif. Au cours de l'agitation du milieu r\u00e9actionnel, un pr\u00e9cipit\u00e9 jaun\u00e2tre se forme. Ainsi, le milieu r\u00e9actionnel est concentr\u00e9 sous pression r\u00e9duite afin de faire pr\u00e9cipiter toute la fraction insoluble dans le dichlorom\u00e9thane. Ceci fait, le milieu r\u00e9actionnel est filtr\u00e9 et un solide jaune est r\u00e9cup\u00e9r\u00e9. Ensuite, de l'\u00e9ther est ajout\u00e9 au filtrat, de couleur jaune vif, provoquant la pr\u00e9cipitation d'un solide jaun\u00e2tre. En cons\u00e9quence, deux poudres sont obtenues apr\u00e8s s\u00e9chages des deux solides sous pression r\u00e9duite.

❖ Esp\u00e8ce non soluble dans le dichlorom\u00e9thane (poudre jaune non pes\u00e9e) :

RMN ¹H_{para} (300 MHz, MeOD) : δ (ppm) = 142,3 (H_o) ; 117,4 ; 105,9 et 71,2 (CH₂) ; 54,0 ; 53,1 ; 51,9 et 46,6 (H_m, H_m' et CH₂) ; 25,3 (CH₂) ; 16,5 (H_p ou CH₂) ; -5,57 et -7,66 (H_p et/ou CH₂/CH₃).

SM (ESI, MeOH) : m/z = 886,0 (14, [L+Cl+Fe^{II}]⁺) ; 913,0 (100, [L+2MeO+Fe^{III}]⁺).

❖ Espèce soluble dans le dichlorométhane (fine poudre jaune non pesée) :

RMN $^1\text{H}_{\text{para}}$ (300 MHz, CD_2Cl_2) : δ (ppm) = 145,8 et 142,1 (H_o) ; 105,3 ; 103,4 ; 92,0 et 90,6 (CH_2) ; 60,5 ; 59,2 ; 56,5 ; 53,3 et 49,7 (H_m , H_m' et CH_2) ; 22,1 et 19,3 (H_p) ; -9,77 ; -10,7 ; -16,5 et -22,6 (H_p et/ou CH_2/CH_3).

SM (ESI, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$) : m/z = 425,6 (75, $[\text{L}+\text{Fe}^\text{II}]^{2+}/2$) ; 886,0 (100, $[\text{L}+\text{Cl}+\text{Fe}^\text{II}]^+$).

B. Tests catalytiques d'oxydation d'alcènes et de thioéthers

La **quantification des substrats et des produits d'oxydation** a été déterminée par chromatographie en phase gazeuse sur un instrument de type Autosystem XL de Perkin-Elmer connecté à un intégrateur PE NELSON 1022 relié à un détecteur FID, utilisant une colonne SE 30 couplée à un spectromètre Turbomass EI de Perkin-Elmer. La température du programme GC/MS débute à 100°C pendant 4 minutes, puis augmente par pas de 25°C/min, et ce, sur une période de 13 minutes.

L'**énantiosélectivité des réactions** d'oxydation a été définie par chromatographie en phase gazeuse sur un appareil Clarus 500 de Perkin-Elmer, sur une colonne chirale de type Lipodex E. Le programme commence à une température de 40°C, qui augmente par pas de 15°C/min jusqu'à 140°C, cette température est maintenue pendant 5 minutes avant d'augmenter par pas de 3°C/min jusqu'à 160°C. La température est maintenue 15 minutes durant, puis retombe à 40°C par pas de 15°C/min.

I- En milieu organique

Deux conditions sont utilisées. L'une consiste en l'addition de 300 éq. de peroxyde d'hydrogène à 35% (26,5 μL), dilués dans de l'acétonitrile (123,5 μL), par pousse-seringue durant 30 minutes à une solution de 1 éq. de complexe (1 μmol), 200 éq. de substrat ainsi que 100 éq. d'acide acétique (6 μL) dans de l'acétonitrile ou un mélange acétonitrile/acide acétique 1/2, le volume total du milieu catalytique étant de 1 mL. L'autre condition s'effectue par l'ajout en une fois – autrement dit sans pousse-seringue – de 300 éq. de peroxyde d'hydrogène au milieu catalytique contenant 100 éq. d'acide acétique, ou au mélange acétonitrile/acide acétique 1/2, avec dans les deux cas, la présence de 200 éq. de substrat.

Dans ces conditions, le substrat est le réactif limitant donc, les rendements des produits d'oxydation sont basés sur la quantité de celui-ci. Les produits d'oxydation sont détectés par chromatographie en phase gazeuse (GC) et leurs rendements calculés à partir de l'aire sous les pics qui leur correspondent par comparaison à celle du pic reliée à une référence interne qui est ici la benzophénone (1 M ; 20 μ L). La formule utilisée pour calculer les rendements des produits d'oxydation est :

$$\mathcal{R} = \mathcal{A}_p / \mathcal{A}_{\text{réf}} \times n_{\text{réf}} \times Fr_p$$

\mathcal{A}_p désigne l'aire sous le pic du produit, $\mathcal{A}_{\text{réf}}$ l'aire sous le pic de la référence, $n_{\text{réf}}$ le nombre de mole de la référence (en μ mol) et Fr_p le facteur de réponse du produit.

Les expériences de catalyse ont été réalisées en aérobiose à la température ambiante.

II- En milieu aqueux

De l'hypochlorite de sodium à 11,5% (6,12 μ mol ; 2,4 éq. /substrat ; 3 μ L) est ajouté en une fois à une solution de tampon HEPES 10 mM (107 μ L) ayant un pH de 7, contenant le complexe (5 nmol) et du thioanisole dilué au 1/10 dans le méthanol (2,55 μ mol ; 510 éq. /complexe ; 3 μ L), pour un volume total de 134 μ L. Un prélèvement de 25 μ L du milieu catalytique est effectué au bout de 5, 15 et 60 minutes. Ces prélèvements sont ensuite extraits avec 200 μ L de dichlorométhane dans des tubes Eppendorf contenant 10 μ L de benzophénone (référence interne) à une concentration de 0,1 M. Le mélange contenu dans ces tubes Eppendorf est ensuite bien agité à l'aide d'un vortex afin de bien séparer la phase organique de la phase aqueuse. Ensuite, 1 μ L de la fraction organique – dans laquelle sont dissous les produits d'oxydation – est prélevé et injectée en GC.

Test de stabilité réalisé sur l'hybride NikA/Fe(L4diC₂O₂H)

- **1^{er} tour :** $n(\text{sulfoxyde}) = 74/100 \times 2,55 \text{ } \mu\text{mol}$ et $n(\text{cata}) = 5 \text{ nmol}$
 $\Rightarrow \text{TON} = n(\text{sulfoxyde})/n(\text{cata}) = 1,887/0,005 = 377$
- **2^{ème} tour :** $n(\text{sulfoxyde}) = 74/100 \times 2,60 \text{ } \mu\text{mol}$ et $n(\text{cata}) = 5 - 25/134 \times 5 = 4 \text{ nmol}$
 $\Rightarrow \text{TON} = 481$

- **3^{ème} tour** : $n(\text{sulfoxyde}) = 59/100 \times 2,58 \text{ } \mu\text{mol}$ et $n(\text{cata}) = 4-25/115 \times 4 = 3 \text{ nmol}$
=> TON = 507
- **4^{ème} tour** : $n(\text{sulfoxyde}) = 55/100 \times 2,76 \text{ } \mu\text{mol}$ et $n(\text{cata}) = 3-25/96 \times 3 = 2 \text{ nmol}$
=> TON = 759

C. Surexpression, extraction et purification de la protéine NikA

I- Surexpression de la protéine NikA

La protéine NikA a été purifiée au LCCP/IBS dans l'équipe de C. Cavazza.²

Dans un premier temps, 1 μL de la construction pET22b/*nika* est ajouté à 200 μL de bactéries de la souche compétente d'*E. Coli* B834(DE3), le mélange étant ensuite incubé pendant 30 minutes dans la glace. Par la suite, la transformation se fait via un choc thermique à 42°C durant 45 secondes. Les 200 μL de bactéries sont alors mis en préculture par l'ajout de 800 μL de LB à 37°C, sous agitation, pendant 1 heure. La sélection des bactéries ayant intégré la construction procède en mettant les cellules en préculture dans un milieu sélectif LB et ampicilline (100 mg.L^{-1}) à 37°C, sous agitation, pendant 6 heures. Cette sélection se poursuit dans un volume de 200 mL de milieu minimum NYM, méthionine (300 μM) et ampicilline (100 mg.L^{-1}) à 37°C, sous agitation, pendant 15 heures environ.³

Dans un second temps, cette préculture est utilisée pour inoculer 2 L de milieu minimum NYM, ajoutés de 0,3 mM de méthionine et 100 mg.L^{-1} d'ampicilline.³ La surexpression de NikA est induite par ajout d'IPTG (0,5 mM) lorsque l'absorbance à 600 nm de la culture atteint une valeur située entre 0,6 et 0,8. L'expression est alors réalisée pendant 15 heures. Les bactéries sont ensuite récupérées par centrifugation à 8000 rpm pendant 15 minutes. Une préculture est réalisée à l'aide du stock produit à l'étape précédente, pour inoculer au 1/20^{ème} le milieu de culture LB ajouté d'ampicilline (100 mg.L^{-1}). La surexpression de NikA est induite par l'ajout d'IPTG (0,5 mM) lorsque l'absorbance à 600 nm de la culture atteint une valeur comprise entre 0,6 et 0,8. Les bactéries sont alors laissées 3 heures à 37°C, sous agitation, avant leur récupération par centrifugation (8000 rpm pendant 15 minutes).

II- Extraction et purification de la protéine NikA

L'extraction périplasmique permet, à partir de bactéries non lysées, de séparer facilement les protéines du périplasme (dont fait partie NikA), des autres protéines de la cellule, en cassant uniquement la membrane externe. Les bactéries sont de nouveau suspendues dans du tampon Tris-EDTA (50 mM, pH 9) à l'aide d'une pastille contenant un mélange d'inhibiteurs de protéases.⁴ Le tout est alors placé à 37°C, sous agitation douce, pendant 30 à 45 minutes, avant que la solution ne soit centrifugée à 13000 rpm, à 4°C, pendant 1 heure. Après centrifugation, le surnageant est récupéré et 40% de sulfate d'ammonium est ajouté. Le mélange est ensuite mis sous agitation pendant 20 minutes. Les protéines précipitées, contenant NikA, sont récupérées en centrifugeant à 18000 rpm, à 4°C, pendant 1 heure. Ceci fait, le surnageant est récupéré et dialysé 3 fois, afin de mettre la protéine en solution dans du tampon Tris (40 mM, pH 7,4).

Pour la purification de NikA, deux types de colonnes ont été utilisés :

✓ Purification par chromatographie sur colonne Q-sépharose (Pharmacia)

Il s'agit d'une colonne échangeuse d'anions. Elle est équilibrée avec le tampon Tris (40 mM, pH 7,4). A ce pH, NikA est chargée négativement (pI = 5,3) ; ainsi peut-elle être retenue par la colonne. L'élution se fait par un gradient continu de 0 à 450 mM de NaCl en 10 volumes de colonne.

✓ Purification par chromatographie sur colonne Resource-Q (Pharmacia)

La colonne Resource-Q est aussi une colonne échangeuse d'anions, mais elle est plus résolutive que la Q-Sépharose, et permet donc d'améliorer la pureté de la solution protéique. Mais avant d'injecter l'échantillon sur la colonne, toute trace de sels doit être enlevée, en faisant une dialyse contre le tampon Tris (40 mM, pH 7,4). La colonne est équilibrée avec ce tampon et les protéines sont éluées par un gradient continu de 0 à 250 mM de NaCl en 25 volumes de colonne. La purification se termine par 4 lavages de la protéine sur Centriprep 30 kDa, puis une concentration sur Centricon, avec un seuil de coupure de 10 kDa.

D. Elaboration, purification et caractérisation des hybrides

La **purification des hybrides** a été réalisée à l'aide de colonnes prépaquées PD10, avec de la résine G25, de Healthcare.

La **concentration des échantillons** s'est faite à l'aide de Vivaspin 4 provenant de Sartorius, dont la membrane est faite de polyéthersulfone, avec un seuil de coupure de 10 kDa. La centrifugation a été effectuée sur une centrifugeuse Sigma 3-16PK de Bioblock Scientific possédant un rotor 12159 à 4°C.

I- Elaboration et purification des hybrides

La protéine NikA est incubée toute la nuit, à 25°C, avec le complexe inorganique, ce dernier étant dissous dans du diméthylsulfoxyde (DMSO), la proportion protéine/complexe étant de 1/5.

Ensuite, l'excès de molécules de complexe est éliminé par filtration sur gel en utilisant des colonnes PD10 contenant des billes de résine. Le tampon Tris (40 mM, pH 7,4) est utilisé comme éluant. La solution en sortie de colonne est déposée sur Centricon, pourvu d'une membrane ayant un seuil de coupure de 10 kDa, et le tout est centrifugé pendant 40 minutes à 4000 g. Les étapes de filtration sur gel et d'ultrafiltration sont répétées autant de fois que nécessaire pour l'élimination totale de complexe libre. Pour s'en assurer, une analyse du non-retenu (la fraction ayant traversé la membrane du Centricon) est effectuée par spectroscopie d'absorption UV-visible.

II- Caractérisation des hybrides

II-1. Dosage du fer

Une gamme d'étalonnage est tout d'abord réalisée afin de déterminer la quantité de fer présente dans les échantillons protéiques. Pour ce faire, une solution mère d'ions Fe^{II} à 500 μM est préparée à partir d'une solution commerciale de Fe^{II} diluée au 1/36^{ème}. Des échantillons d'un volume de 65 μL final contenant 2, 4, 6, 8 et 10 nmol de Fe^{II} sont préparés à partir de cette solution mère. Ensuite, 45 μL d'acide perchlorique à 1 M sont ajoutés à chacun des échantillons puis, après agitation vigoureuse, l'ensemble est incubé à température ambiante pendant 15 minutes. Après centrifugation, 72 μL de bathophénanthroline disulfate à 1,7 mg.mL^{-1} et 36 μL d'ascorbate de sodium à 38 mg.mL^{-1} sont ajoutés à 90 μL de chaque

échantillon de fer. L'addition finale de 27 μL d'acétate d'ammonium saturé et dilué 3 fois, induit l'apparition d'une couleur rose pâle pour chacun des échantillons dont l'intensité est fonction de la quantité de fer présente. Après une incubation de 30 minutes à température ambiante, une mesure de la différence d'absorbance entre 535 et 680 nm est effectuée, cette différence étant reliée directement à la quantité de fer.

Le même protocole est utilisé sur les échantillons contenant les différents hybrides pour déterminer leur concentration en fer.

II-2. Dosage protéique

Pour le dosage en protéine de nos échantillons contenant les hybrides, il faut commencer par établir une gamme d'étalonnage avec de la BSA à 2 mg.mL^{-1} . Plusieurs échantillons de BSA de concentration connue sont préparés et leur volume ajusté à 1 mL avec du tampon phosphate (50 mM, pH 7,5). Ceci fait, 100 μL de solution de Rose Bengal à 1 mg.mL^{-1} sont ajoutés à chacun des échantillons. Ceux-ci sont ensuite agités vigoureusement avant d'être incubés entre 2 et 5 minutes à température ambiante. L'ajout de 100 μL d'acide acétique dilué de moitié, induit la diminution plus ou moins importante de la coloration rose en fonction de la concentration en BSA. La lecture immédiate de l'absorbance à 560 nm est reliée à la concentration protéique.

Une fois la gamme d'étalonnage obtenue, la concentration en protéine des échantillons contenant les hybrides peut être déterminée selon le même protocole.

Références :

- (1) Martinho, M.; Banse, F.; Sainton, J.; Philouze, C.; Guillot, R.; Blain, G.; Dorlet, P.; Lecomte, S.; Girerd, J.-J. *Inorg. Chem.* **2007**, *46*, 1709-1717.
- (2) Cherrier, M. V. Thèse, Université Joseph Fourier, **2006**.
- (3) Budisa, N.; Steipe, B.; Demange, P.; Eckerskorn, C.; Kellermann, J.; Huber, R. *Eur J Biochem.* **1995**, *230*, 788-796.
- (4) van der Westen, H. M.; Mayhew, S. G.; Veege, C. *FEBS Lett.* **1978**, *86*, 122-126.

Annexe 1. Données cristallographiques pour le complexe

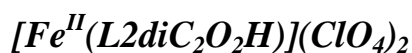


Table 1. Données cristallographiques et de résolution pour $[Fe^{II}(L2diC_2O_2H)](ClO_4)_2$

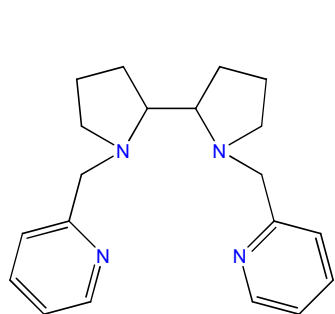
| | |
|---|---|
| Formule brute | $C_{25}H_{34}Cl_2FeN_4O_{13}$ |
| Masse moléculaire | 725,31 |
| Température | 150(2) K |
| Longueur d'onde | 0,71073 Å |
| Système cristallin | Orthorhombique |
| Groupe d'espace | $P2_12_12_1$ |
| Dimension de la maille | $a = 12,1116(4)$ Å $\alpha = 90^\circ$ $b = 15,7961(6)$ Å $\beta = 90^\circ$ $c = 16,4185(6)$ Å $\gamma = 90^\circ$ |
| Volume, Z | 3141,11(19) Å ³ , 4 |
| Densité (calculé) | 1,534 g/cm ³ |
| Taille du cristal | $0,26 \times 0,17 \times 0,13$ mm ³ |
| Intervalle θ pour la collection de données | 3,26 à 26,37° |
| Indices | $-13 \leq h \leq 15, -19 \leq k \leq 11, -11 \leq l \leq 20$ |
| Réflexions collectées | 10236 |
| Réflexions indépendantes | 6361 [R(int) = 0,0362] |
| Méthode d'affinement | Moindres carrés en F ² |
| Données / contraintes / paramètres | 6361 / 0 / 566 |
| Indices R finaux [$I > 2\sigma(I)$] | $R_1 = 0,0412$; $wR_2 = 0,0380$ |
| Indices R (données entières) | $R_1 = 0,0884$; $wR_2 = 0,0424$ |

Annexe 2. Données cristallographiques pour les hybrides

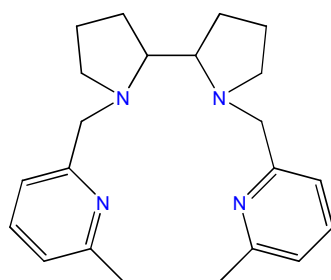
Table 2. Données cristallographiques et de résolution pour les hybrides

| | NikA/Fe(L4MeC ₂ O ₂ H) | NikA/Fe((S,S)-L2MeC ₂ O ₂ H) | NikA/Fe((R,R)-L2diC ₂ O ₂ H) |
|---|--|---|--|
| Ligne de lumière de l'ESRF | Id23eh1 | BM30A | Id23eh1 |
| Longueur d'onde | 1,2798 Å | 0,9796 Å | 1,2798 Å |
| Groupe d'espace | | <i>P</i> 2 ₁ 2 ₁ 2 ₁ | |
| Paramètres de maille | a = 86,67 | a = 86,88 | a = 86,35 |
| | b = 94,73 | b = 95,19 | b = 95,64 |
| | c = 124,87 | c = 125,15 | c = 125,19 |
| | $\alpha = 90^\circ ; \beta = 90^\circ ; \gamma = 90^\circ$ | | |
| Nombre de molécules par unité asymétrique | 2 | | |
| Résolution | 50 – 1,7 Å (1,8 – 1,7 Å) | 50 – 2,0 Å (1,9 – 2,0 Å) | 50 – 2,0 Å (1,9 – 2,0 Å) |
| Complétude | 99,7% (99,7%) | 99,9% (100,0%) | 98,7% (99,6%) |
| I/ σ (I) | 19,33 (5,84) | 19,31 (6,24) | 17,32 (6,37) |
| Nombre total de réflexions mesurées | 767122 (112764) | 508639 (68115) | 493650 (65834) |
| Redondance | 6,8 (6,4) | 7,1 (7,2) | 7,0 (7,0) |
| R _{SYM} | 6,0% (35,8%) | 7,0% (32,1%) | 6,7% (30,7%) |
| Facteur R et R _{free} (%) | 15,21 / 18,93 | 14,41 / 19,31 | 15,46 / 20,27 |
| Nombre total d'atomes | 9858 | 9371 | 9191 |
| Nombre d'atomes du solvant | 1277 | 973 | 856 |
| Facteur B moyen (Å ²) | 17,13 | 24,05 | 27,47 |
| RMSD | | | |
| Liaison (Å) | 0,007 | 0,007 | 0,007 |
| Angles (°) | 1,085 | 1,069 | 1,085 |
| Ramachandran (%) | | | |
| Résidus dans la région la plus favorable | 97,7 | 97,7 | 96,7 |
| Résidus dans la région interdite | 0,0 | 0,0 | 0,2 |
| Rotamères non favorables | 2,0 | 2,0 | 2,1 |

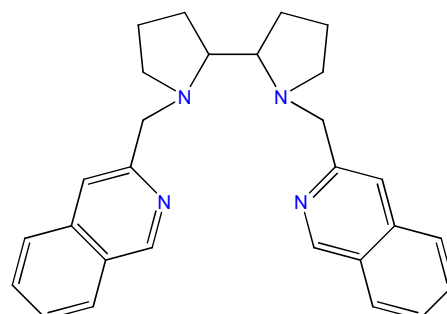
Ligands non hémiques de la littérature mentionnés dans le manuscrit



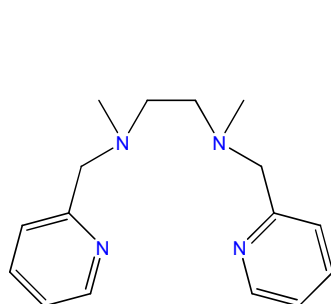
BPBP



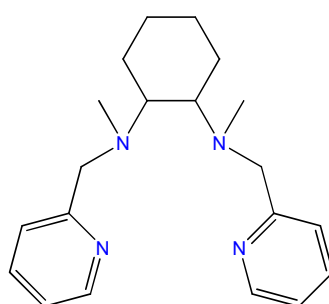
6-Me₂-BPBP



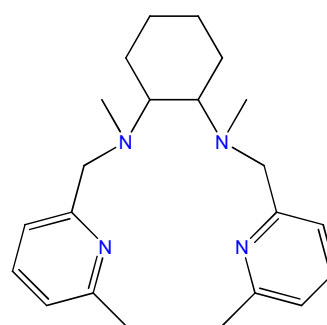
BQBP



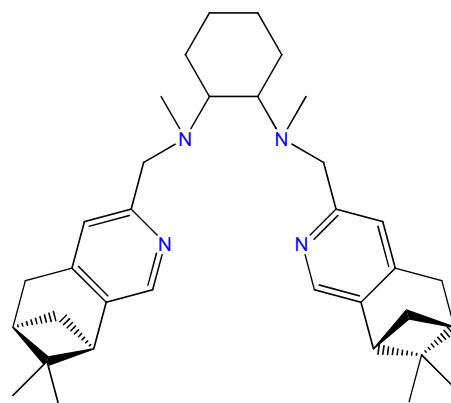
BPMEN



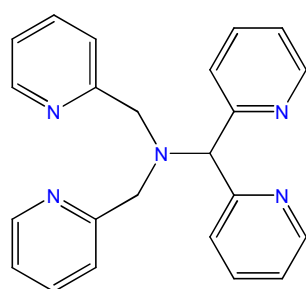
BPMCN



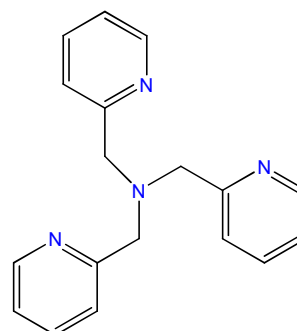
6-Me₂-BPMCN



MCPP

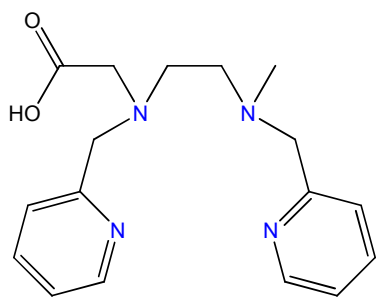


N4Py

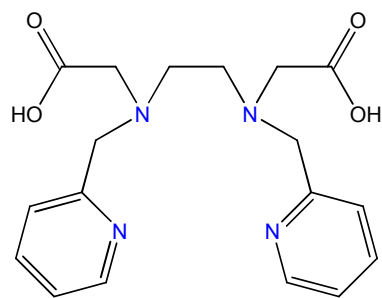


TPA

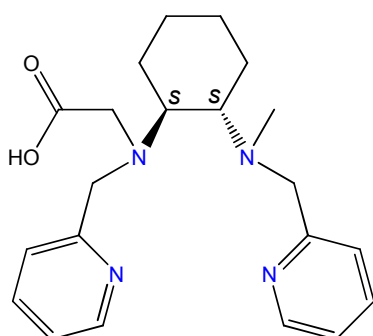
Ligands non hémiques synthétisés lors des travaux de thèse



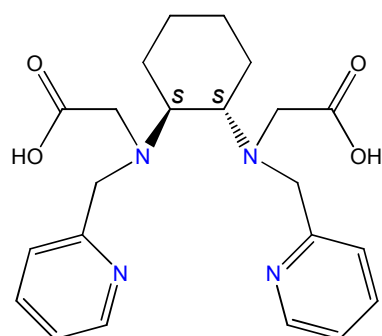
L4MeC₂O₂H



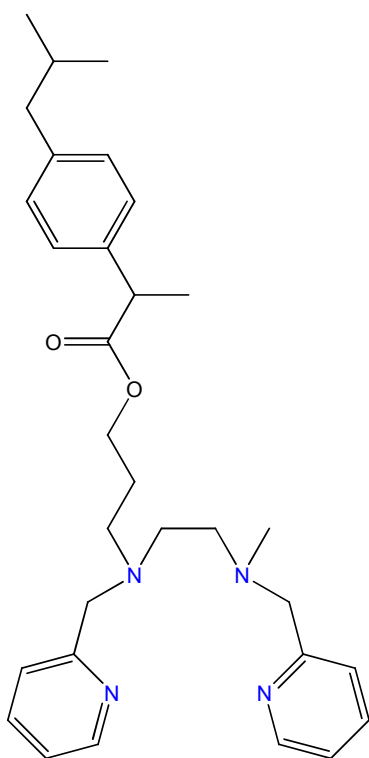
L4diC₂O₂H



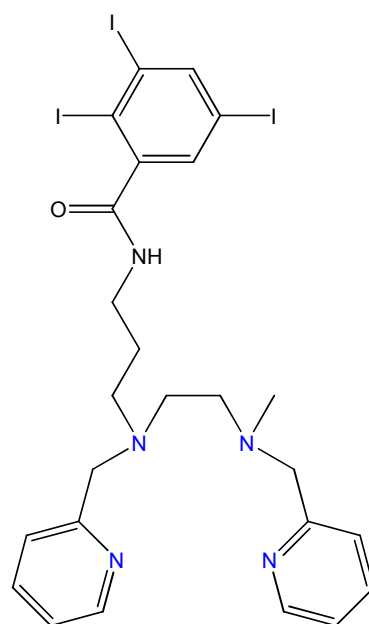
(S,S)-L2MeC₂O₂H



(S,S)-L2diC₂O₂H



L4MeC₃-Ibu



L4MeC₃NH-TIB

Résumé

Mes travaux de thèse ont consisté en l'élaboration de nouveaux catalyseurs répondant aux critères de la "chimie verte" dans le but de réaliser la catalyse asymétrique d'oxygénation de molécules organiques telles que les thioéthers et les alcènes. Ces nouveaux catalyseurs sont des hybrides bio-inorganiques résultant de l'association d'une protéine et d'un complexe de fer. Notre choix s'est porté sur la protéine bactérienne NikA qui est capable de reconnaître le complexe Fe(EDTA). Nous avons synthétisé des complexes de fer possédant des ligands de type N_2Py_2 (deux amines et deux pyridines), un environnement propice pour avoir une chimie centrée sur le métal. Sur les amines, ont été greffés un ou deux groupements carboxyle pour permettre la reconnaissance avec NikA. Les études catalytiques menées sur ces complexes en oxydation d'alcènes et de thioéthers ont montré que la présence d'un seul groupement carboxyle altère peu l'activité du catalyseur, mais deux groupements carboxyle inhibent totalement la réactivité du complexe. L'obtention de la structure de l'un d'entre eux, ainsi que les analyses spectroscopiques nous ont montré des aspects singuliers de ces complexes, comme la coordination sur l'ion Fe^{II} des groupements carboxyle par le carbonyle, et la formation de l'espèce $Fe^{II}Cl_4^{2-}$, en contre-ion, lorsque les complexes sont préparés à partir de $Fe^{II}Cl_2$. Les hybrides ont été testés en catalyse de sulfoxydation montrant une activité accrue sans (ou très peu) de production de sulfone, contrairement aux complexes correspondants avec lesquels autant de sulfoxyde que de sulfone se forme. En outre, nous avons observé au niveau de la structure cristallographique de certains des hybrides des configurations inédites pour ce type de complexes. Malheureusement, nous n'avons obtenu que de très faibles énantiosélectivités ($ee = 11\%$). Pour pallier à ce problème, des expériences de mutagenèse dirigée, basées sur la structure cristallographique des hybrides et des études de docking, sont envisagées. Pour conclure, de nouvelles métalloenzymes artificielles ont été élaborées. Elles serviront de base pour de nouveaux systèmes plus optimisés.

Mots-clés : Catalyse asymétrique, époxydation, sulfoxydation, complexes de fer, hybrides bio-inorganiques, "chimie verte".

Abstract

My thesis works have consisted in elaborating new catalysts, in agreement with the "green chemistry" principles, to promote the catalysis of asymmetric oxygenation of thioethers and alkenes. These new catalysts are bio-inorganic hybrids which result from the association of a protein and an iron catalyst. Our choice for the protein have consisted of the bacterial protein NikA which is able to bind the Fe(EDTA) complex. Then, we have synthesized iron complexes containing N_2Py_2 ligands (two amine and two pyridine moieties), a favorable environment for metal-based chemistry. On the amino moieties, were added one or two carboxyle groups to allow the recognition with NikA. The catalytic studies of these complexes in alkenes and thioethers oxidation have shown that the presence of one carboxyle moiety alter slightly the reactivity of the catalyst, but two carboxyle groups poisoned totally the catalyst. The obtention of the structure of one complex and several spectroscopic analyses have shown uncommon features for theses complexes, such as the coordination of carboxyle groups by the carbonyl moiety to the iron center, and the formation of the species $Fe^{II}Cl_4^{2-}$, as counter-ion, when the complexes are prepared with $Fe^{II}Cl_2$. The NikA/ $Fe(N_2Py_2)$ hybrids were tested in sulfoxidation catalysis showing an enhanced activity without (or very few) sulfone production, opposite to the corresponding complexes alone which afford both sulfoxide and sulfone. Besides, we have determined cristallographic structure of some hybrids and some novel configurations for this type of complexes have been observed. Unfortunately, we have obtained poor enantioselectivities ($ee = 11\%$). To solve this problem, directed mutagenesis experiences, based on cristallographic structure of the hybrids and on docking studies, are envisaged. To conclude, new artificial metalloenzymes have been designed. They will serve as basis for new more optimized systems.

Key words: Asymmetric catalysis, epoxidation, sulfoxidation, iron complexes, bio-inorganic hybrids, "green chemistry".